

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



TESIS DOCTORAL

Composición de los aceites esenciales de plantas del género
Tencrium

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Pilar María Morera Marante

DIRECTOR:

José Calderón Martínez

Madrid, 2015



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5324472002

577.1

MOR

COMPOSICION DE LOS ACEITES ESENCIALES DE PLANTAS DEL GENERO TEUCRIUM

b 16266808

i36066266

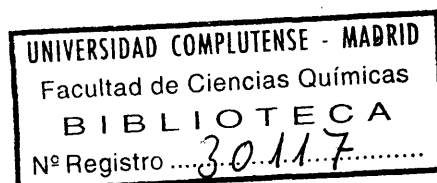
Director: Dr. D. José Calderón Martínez
Profesor de Investigación del
C.S.I.C.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Ciencias

Departamento de Química Orgánica

Año 1981



INSTITUTO DE QUIMICA ORGANICA GENERAL

Este trabajo ha sido realizado en el - Instituto de Química Orgánica General del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, en la Unidad Estructural de Investigación de - Análisis Instrumental, bajo la dirección del - Dr. D. José Calderón Martínez, Profesor de Investigación y del Dr. D. Jesús Sanz Perucha, - Colaborador Científico, a quienes expreso mi - mas sincero agradecimiento.

Agradezco asimismo a la Dirección del Instituto las facilidades concedidas para la realización del trabajo, y al Consejo Superior de Investigaciones Científicas la concesión de una Beca con este fin.

También hago constar mi agradecimiento al Dr. D. Enrique Valdés Bermejo y Dr. D. José Borja Carbonell por su ayuda en el aspecto botánico de este trabajo.

I N D I C E

INTRODUCCION	4
I. PLAN DE TRABAJO	17
II. PARTE EXPERIMENTAL	20
II.1 ACEITES ESENCIALES ESTUDIADOS	20
II.2 METODOS INSTRUMENTALES	25
II.2.1 METODOS DE OBTENCION Y FRACCIONAMIENTO DEL ACEITE	25
II.2.1.1 <u>Obtención del aceite</u>	25
II.2.1.2 <u>Fraccionamiento de los aceites</u>	26
II.2.2 METODOS DE IDENTIFICACION Y DETERMINACION CUANTITATIVA	28
II.2.2.1 <u>Cromatografía de gases (GC)</u>	28
a) <u>Identificación de componentes</u>	28
b) <u>Análisis cuantitativo</u>	29
c) <u>Preparación de las columnas capilares</u>	31
Consideraciones generales	31
Métodos de recubrimiento	37
Tipos de columnas preparadas	38
d) <u>Condiciones de trabajo</u>	43
II.2.2.2 <u>Espectrometría de masas (MS)</u>	44

II.2.2.3	<u>Espectroscopía infrarroja (IR)</u>	45
II.2.2.4	<u>Resonancia magnética nuclear (RMN)</u>	46
III.	RESULTADOS Y DISCUSION	47
III.1	IDENTIFICACION DE LOS COMPONENTES DE ACEITES ESENCIALES DE PLANTAS DEL GENERO TEUCRIUM	47
III.2	ANALISIS CUANTITATIVO	113
III.3	COMPARACION DE RESULTADOS	114
	CONCLUSIONES	149
	BIBLIOGRAFIA	154

I N T R O D U C C I O N

El estudio de los productos procedentes de la destilación de las plantas se remonta a la época de la Alquimia. El nombre de aceites esenciales, como actualmente se denominan, parece proceder de la misma época. El término aceite indica su insolubilidad en agua y aspecto oleoso, mientras que el calificativo de esencial, - debe proceder de que al destilado, se le consideraba como principio activo o esencial de la planta.

Estos aceites esenciales vienen aprovechándose con fines prácticos desde tiempos inmemoriales en los diversos países del mundo. Proceden, en general, de la flora aromática localizada principalmente en el arbusculetum o matorral, que en nuestro país ocupa unos catorce millones de hectáreas (1).

Es de destacar que, en lo que se refiere a Europa, debido a las condiciones climatológicas, las plantas aromáticas abundan en los países de la Cuenca Mediterránea, ocupando nuestra península un lugar prominente. La diversidad, riqueza y finura de los aceites esenciales procedentes de nuestra flora endémica son universalmente reconocidas, lo que convierte a nuestro país, en determinados casos, en el principal y único proveedor mundial de alguno de ellos.

Como dato de referencia con relación a la importancia de - nuestros aceites esenciales, "La Industria Química de España", edi-

tada por el Consejo de Cámaras Oficiales de Comercio y Navegación, destaca que la producción española sobrepasó los 2.000 millones - de pesetas en 1.978. La principal industria consumidora hoy de estos productos es la perfumería, siguiéndole en importancia, las - de alimentación.

Es evidente que, ante una fuente de riqueza tan relevante, se haga necesario un planteamiento global de investigación en el campo de los aceites esenciales nacionales, en especial de los - procedentes de plantas no estudiadas hasta la fecha, y de los que ya poseen un reconocido interés industrial. Un proyecto que abarque toda la problemática, con la colaboración de distintos especialistas, no ha sido acometido en nuestro país como se merece, pues, que sepamos, solo existen trabajos muy meritorios, pero limitados a aspectos muy particulares.

Si tenemos en cuenta la materia prima, es decir, las plantas aromáticas, es de destacar que no ha sido ni siquiera iniciado hasta ahora un estudio sistemático de nuestra flora endémica como fuente potencial de nuevos aceites. La importancia de esta faceta del conocimiento puede justificarse por el hecho de que, por ejemplo, el aceite de Thymus mastichina L. se produce solamente en - nuestro país, y es sorprendente el éxito del mismo en un mercado tan competitivo como los Estados Unidos, a pesar de que en opinión de Actander (2) su calidad es inferior a la esencia de la "mejorana fina".

Siguiendo en esta dirección, tanto en lo que se refiere a los aceites esenciales industrializados como a los no estudiados, una línea de investigación avanzada debiera tener en cuenta si las variaciones de calidad y rendimiento de las distintas plantas son

debidas a circunstancias de índole genética, y si se pueden corregir o mejorar por tratamientos adecuados. Por otro lado, un estudio de las condiciones edáficas y climatológicas sobre las distintas especies, las fechas de recolección, cultivos controlados y estado vegetativo de la planta podrían completar esta línea de trabajo. - Es de destacar, por último, la poca atención que se presta en nuestro país a una recolección esmerada y selectiva, sobre todo cuando esta operación se realiza con especies muy parecidas que se presentan juntas.

Todos estos factores hay que tenerlos muy en cuenta si se quieren conseguir calidades totalmente normalizadas de nuestros aceites, ya que la enorme competencia de la química de síntesis - puede conducir a una devaluación de aquellos.

Si pasamos a considerar los procedimientos industriales de obtención de los aceites, nos encontraremos con que suelen ser bastante primitivos, numerosos y variados, con indudable influencia sobre la calidad. Sin duda la mayoría de las objeciones que se hacen a nuestras esencias obedecen a esta causa, sin olvidar tampoco que, en ocasiones, se deben a manipulaciones de vendedores desaprensivos. A escala de laboratorio, los aceites se extraen en general de la planta por arrastre con vapor de agua, empleando aparatos que permiten la reciclación de la misma.

Como se sabe, los aceites esenciales, están constituidos por mezclas líquidas muy complejas, caracterizadas fundamentalmente por su aroma, relativa volatilidad e insolubilidad en agua.

Los componentes de un aceite esencial se hallan en concentraciones muy diversas. En algunos casos, un componente fundamental

puede superar el 80 % de la mezcla, mientras que la mayoría de ellos se presentan en cantidades traza. Entre sus componentes destacan los de naturaleza terpénica, casi exclusivamente mono y sesquiterpenos. Pero también aparecen, a veces en gran proporción, compuestos no terpénicos, tanto aromáticos como alifáticos. Todos los compuestos presentan funciones químicas muy variadas, encontrándose, entre ellos, hidrocarburos, éteres, ésteres, aldehidos, cetonas, alcoholes, fenoles y ácidos (mencionados en orden de polaridad creciente).

Para una determinada esencia más que hablar de "constancia" de composición, hay que considerar una "elasticidad" de la misma, porque la composición y todas las propiedades funciones de aquella varían incluso en una planta individual según el órgano de procedencia (hojas, corteza, fruto, etc.), con la época de recolección, con las condiciones climáticas durante el ciclo vegetativo, con el almacenamiento, con el método de destilación u obtención, con la composición y vejez de la esencia, etc.. Esta elasticidad en la composición es lo que ha condicionado el establecimiento de límites máximos y mínimos de riqueza de los componentes que dan valor a cada esencia, y de las constantes o características físicas y químicas que se determinan en el control analítico comercial.

Dentro de una misma especie de plantas existen las llamadas variedades químicas, indiferenciables botanicamente de la forma "tipo", que se distinguen por proporcionar esencias de composición diferente (3). Recordemos que los botánicos han designado como "tipo" al ejemplar a partir del cual fue descrita, por primera vez, la especie o forma. A estas variedades se las denomina formas fisiológicas de la especie "tipo", y también razas fisiológicas o químicas, y "tipos" químicos.

Los análisis sistemáticos de control y hasta de identificación de los aceites se han venido realizando durante muchos años por medida de sus constantes físicas e índices químicos, y por la observación de las características organolépticas. La evaluación de los componentes de interés comercial se basaba en la determinación de los índices adecuados, que tenían el inconveniente de no haber sido determinados siguiendo métodos y procedimientos analíticos únicos y normalizados.

El gran desarrollo de las técnicas instrumentales modernas han contribuido a facilitar el estudio de los aceites esenciales. - La introducción rutinaria de la cromatografía gas-líquido (CGL) en los laboratorios de estudio y control de aceites esenciales ha conducido a un mejor conocimiento de estas mezclas complejas. Es sin duda la mejor técnica de separación y determinación cuantitativa - de los componentes y ayuda eficazmente a su identificación, si se dispone de los correspondientes patrones. La cromatografía de gases preparativa permite obtener componentes puros en cantidad suficiente para su estudio analítico con otras técnicas complementarias.

La cromatografía en columna (CC) se utiliza especialmente para el enriquecimiento de fracciones, que por destilación fraccionada podrían dar lugar a fenómenos de descomposición, polimerización o transposición. Además es posible utilizarla cuando se dispone de mínimas cantidades de aceite. En general se emplean como - adsorbentes gel de sílice o alúmina. En algunos casos se ha utilizado también la cromatografía en capa fina como método de identificación, y para determinar sobre todo la complejidad de las fracciones que han de ser refraccionadas por CC, y las condiciones óptimas de separación. También se han conseguido con ella separaciones a - pequeña escala de componentes puros en fracciones enriquecidas.

Entre las técnicas espectrométricas se han venido utilizando la infrarroja (IR), que permite la identificación de las funciones químicas e incluso algunos componentes a partir del espectro - del aceite total, pero su interés resulta evidente por los datos que suministra cuando se ha conseguido el aislamiento de componentes puros, cuyo espectro puede compararse con los que aparecen en la bibliografía. En el caso de componentes desconocidos los datos aportados pueden ser decisivos a la hora de establecer una estructura. Lo mismo podemos decir de espectroscopía ultravioleta-visible, cuando se consigue aislar productos puros que adsorben en esta región.

En esta misma línea, cuando se dispone de cantidades suficientes de productos puros, los datos que puede aportar la resonancia magnética nuclear son imprescindibles también para el establecimiento de estructuras desconocidas.

Pero la novedad de mayor éxito en los últimos años, para la identificación de componentes esenciales, es la asociación de la cromatografía de gases con la espectrometría de masas, que constituye, sin lugar a dudas, la técnica más importante para el estudio de los aceites esenciales, y que hemos utilizado como método fundamental de análisis en éste trabajo.

Los espectros de masas obtenidos por este acoplamiento de técnicas son suficientes, en la mayoría de los casos, para la identificación de componentes conocidos, aunque estén presentes en - cantidades mínimas en el aceite o en fracciones enriquecidas del mismo, si se dispone de los correspondientes patrones o de espectros recopilados de las fuentes bibliográficas.

Con estos medios instrumentales se ha conseguido avanzar, profundamente en estos últimos años en el conocimiento de la composición de muchos aceites esenciales.

Antes de iniciar el presente trabajo y con objeto de conseguir una preparación adecuada en el manejo de las técnicas mencionadas, nos fue propuesto el estudio del aceite comercial Tomillo Timol de la firma "Destilaciones García de la Fuente" de Granada, que presentamos como trabajo de Licenciatura en la Universidad de La Laguna y que mereció la calificación de Sobresaliente.

Este trabajo, junto al realizado en equipo en la Unidad - Estructural de Análisis Instrumental del Instituto de Química Orgánica General del C.S.I.C., dió lugar a una publicación titulada: Estudio analítico de aceites esenciales procedentes de plantas españolas I. Especies del género Thymus, aparecida en una revista italiana (4).

Con este trabajo se inició un amplio proyecto de investigación cuya finalidad es la de llegar al conocimiento de la composición de aceites esenciales de plantas españolas de la familia de las Labiadas, agrupadas en géneros, con el fin de comprobar si las variaciones de composición dentro del mismo género se pueden relacionar con su clasificación botánica. En el caso del género Thymus se han estudiado doce especies.

Siguiendo la misma línea, hemos seleccionado en el presente trabajo como materia de investigación el género Teucrium, del que existen muy pocos antecedentes bibliográficos en lo que se refiere al estudio de sus aceites. Han sido descritas unas trescientas - cuarenta especies del mismo, y se encuentra ampliamente distribuido

en las regiones templadas y cálidas del mundo, principalmente en el Hemisferio Norte, pero con algunas especies en Australia, América del Sur y Africa. Este género está representado en Europa por cuarenta y nueve especies de las cuales treinta y cinco están presentes en la Península Ibérica y Baleares, siendo veinte de ellas endémicas.

Según Valdes Bermejo y Sánchez Crespo (5), las especies ibéricas pueden agruparse según sus similitudes morfológicas y genéticas en las siguientes secciones:

SECT. TEUCRIUM

Flores solitarias en la axila de las hojas superiores. Cáliz campanulado, con el tubo recto, no giboso y con los dientes más o menos iguales.

Número básico cromosómico: $x = 15$

Especies ibéricas: T. fruticans L., T. pseudochamaepitys L., T. campanulatum L., T. aristatum Pérez Lara.

Especie estudiada en este trabajo: T. pseudochamaepitys L.

SECT. SCORODONIA (Hill) Schreber

Inflorescencia dorsiventral, verticilastros racemosos en el extremo de las ramas. Cáliz bilabiado, campanulado, con el tubo curvado, giboso en la base y con el diente superior más ancho que los otros.

Número básico cromosómico: $x = 16$

Especies ibéricas: T. scorodonia L., T. salviastrum Schreber, T. - oxylepis Font Quer, T. asiaticum L.

SECT. SCORDIUM

Inflorescencia dorsiventral, en verticilastros axilares. -
Cáliz tubular, curvado, giboso en la base y con los dientes más o menos iguales.

Número básico cromosómico: $x = 16$

Especies ibéricas: T. scordium L., T. scordioides Schreber, T. spinosum L., T. resupinatum Desf., T. botrys L.

SECT. CHAMAEDRYS (Miller) Schreber

Inflorescencia dorsiventral. Flores numerosas en la axila de las hojas superiores. Cáliz tubular campanulado, curvado, algo giboso en la base, con los dientes más o menos iguales.

Número básico cromosómico: $x = 16$

Especies ibéricas: T. chamaedrys L., T. webbianum Boiss, T. glaucum Jordan & Fourr, T. intricatum Lange, T. fragile Boiss, T. subspinosum Pourret ex Willd.

Especie estudiada en este trabajo: T. chamaedrys L.

SECT. POLIUM (miller) Schreber

Inflorescencia capituliforme, simple o compuesta, nunca -
dorsiventral. Cáliz campanulado o tubular, actinomorfo.

Número básico cromosómico: $x = 13$

Esta sección la dividimos a su vez en tres subsecciones:

Subsect. Rotundifolia Cohen

Hojas anchas con los márgenes poco o nada revolutos.

Especies ibéricas: T. rotundifolium Schreber, T. pyrinaicum L., T. buxifolium Schreber, T. freynii Reverchon ex Willk, T. montanum L., T. thymifolium Schreber, T. compactum Clem. ex Lag., T. franchetianum Rouy & Coincy.

Subsect. Pumilum Rivas-Martínez

Hojas lineares íntegras, vellosas por el envés.

Especies ibéricas: T. pumilum L., T. libanitis Schreber, T. carolipaui C. Vicioso ex Pau, T. lepicephalum Pau, T. turredanum Losa & Rivas Goday, T. x sagarrae Font Quer.

Especies estudiadas en este trabajo: T. pumilum L., T. - carolipaui subsp. fontqueri.

Subsect. Polium

Hojas lineares con el margen más o menos crenado. Indumento de cáliz compuesto de pelos grandulosos, pelos simples y pelos ramificados.

Especies ibéricas: T. polium., T. capitatum L., T. aragonense - Loscos & Pardo, T. expansum Pau, T. carthaginense Lange, T. aureum Schreber, T. vicentinum Rouy, T. lusitanicum Schreber, T. belion - Schreber, T. gnaphalodes L'Hér., T. charidemi Sandwith, T. haense-leri Boiss., T. reverchonii Willk., T. chrysotrichum Lange, T. eriocephalum Willk., T. lanigerum Lag., T. cossonii D. Wood, T. majoricum Rouy, T. T. algarbiense Coutinho.

Especies estudiadas en este trabajo: T. capitatum L., T. -eriocephalum, T. lanigerum, T. charidemi, T. gnaphalodes, T. lusitanicum (= T. subtriphyllum Lag.), T. aureum.

La subsect. Polium es la que incluye mayor número de especies ibéricas, y es también un grupo bastante heterogéneo en cuanto a su morfología. Es posible que después de un estudio más profundo en el que además de los caracteres morfológicos y cromosómicos - se contemplen también los aportados por estudios químicos, se pueden establecer a su vez subgrupos más homogéneos. Entre las especies estudiadas de esta subsección, ateniéndonos a caracteres morfológicos, podríamos distinguir dos grupos: por un lado el T. capitatum, T. lusitanicum y T. aureum (con el indumento calicinal compuesto - de pelos glandulosos, pelos simples y pelos ramificados). Por otro lado, T. charidemi, T. lanigerum, y T. eriocephalum (con el indumento calicinal sin pelos ramificados).

Algunas especies mencionadas de este género se han utilizado en medicina popular desde tiempos muy remotos, y en una revisión exhaustiva de la bibliografía, hemos encontrado muy pocas citas sobre sus aceites esenciales.

Una de las especies más conocidas, la escorodonia T. scorodonia L., cuya infusión se ha utilizado mezclada con vino en especial por sus excelentes cualidades como diurético, produce solo un 0,29 % de aceite esencial (6).

Del T. marum L. de Córcega, que pertenece a la Sect. Chamaedrys, y posiblemente de origen hispánico (aunque hoy se encuentra raramente en la Península Ibérica), se obtienen unas infusiones - que se emplean desde hace mucho tiempo en medicina popular. En un estudio reciente (7), se han separado del aceite esencial tres fracciones: la primera constituida por hidrocarburos, la segunda es una mezcla que constituye el 80 % del total, de dos dolichodiales isómeros, y de la tercera (17 %) se ha aislado la dolicholactona por cromatografía de gases preparativa.

El camedrio (T. chamaedrys L.), perteneciente a la misma sección, se conoce desde la antigüedad como planta medicinal, en especial por sus cualidades antipiréticas. De la parte floral se obtiene un rendimiento en aceite muy bajo (0,07 %). Se han identificado como principales componentes el 1- β -cariofileno (60 %) y el acetato de bornilo (7,84 %) (8). En Yugoslavia se han estudiado las variaciones de los rendimientos en función de las altitudes y las características del suelo (9).

Se han dado datos sobre el rendimiento en aceite (0,30 - 0,33 vol/100) del T. montanum (10), que pertenece a la Sect. Polium,

Se ha estudiado también el aceite de zamarrilla (T. Polium L.), que pertenece a la Sect. Polium, subsect. Polium (11). Se obtiene con un rendimiento muy bajo (0,05 - 0,09 %). Se conoce como planta medicinal desde su antigüedad más remota para el tratamiento de enfermedades producidas por hongos, como antiséptico, diaforético, tónico y diurético. En placas de gel de sílice y cromatografía de gases se han identificado en el aceite: mirceno, α -pineno, mentofurano, ocimeno, y pulegona. Se ha aplicado el acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas al estudio de un aceite de T. polium de la Arabia Saudita, y se han identificado diez compuestos terpénicos: los hidrocarburos β -pineno, limoneno, α -felandreno y γ y δ -cadinenos, y los alcoholes linalol, terpinen-4-ol, cedrol, cedrenol, guaiol (12).

De la misma subsect. Polium, Velasco y Negueruela (13) han estudiado por cromatografía de gases y espectroscopía infrarroja, el aceite esencial del T. gnaphalodes L'Hér. Los componentes fundamentales son el α -pineno, β -pineno y cariofileno.

Por último, Miranda y Suñé (14) obtienen del T. eriocephalum Willk, un rendimiento de aceite del 0,54 - 1,10 %.

I. P L A N D E T R A B A J O

Como se ha indicado en la Introducción, nos proponemos - estudiar en este trabajo la composición de los aceites esenciales de varias especies nacionales del género Teucrium, cuya relación aparece en la Tabla I de la Parte Experimental.

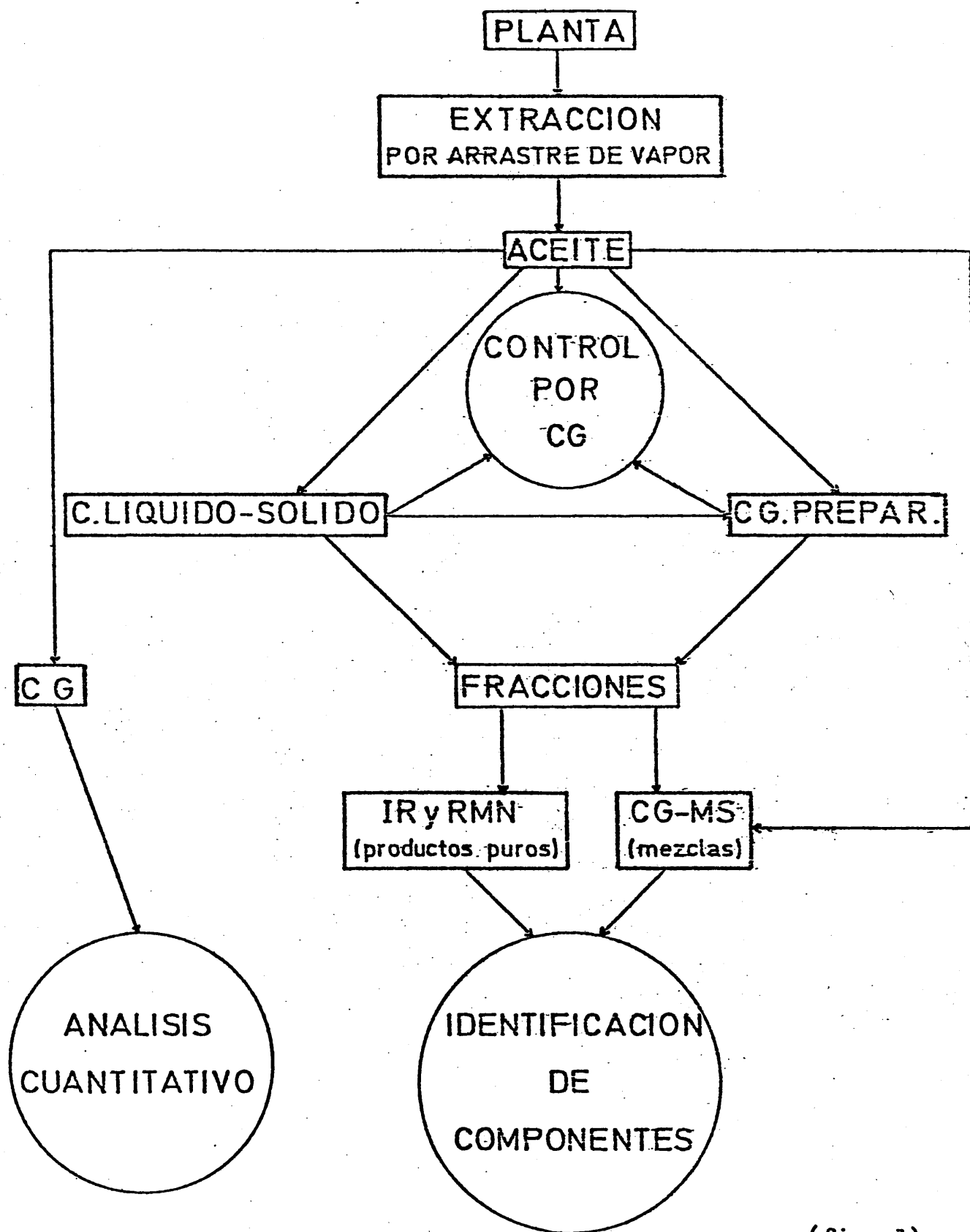
De acuerdo con los resultados obtenidos pretendemos agrupar las especies con composiciones del aceite más semejantes para ver si los agrupamientos resultantes coinciden con la clasificación botánica.

Por otra parte estudiamos para determinadas especies la - variabilidad de la composición con factores climatológicos, edáficos, época de la recolección.

La marcha a seguir que nos hemos trazado para la primera parte de nuestro estudio está esquematizada en la figura 1, que describiremos brevemente a continuación:

Las plantas una vez secas y molidas, se someten a una - extracción con vapor de agua, para obtener el aceite esencial. El cromatograma de este aceite original se utiliza como base de su análisis cuantitativo, al tiempo que permite apreciar la complejidad de su composición.

Para facilitar su identificación, dado que el número de



(fig. 1)

componentes de un aceite esencial es muy elevado, es necesario - realizar fraccionamientos del mismo. Se utiliza la cromatografía en columna para el enriquecimiento de fracciones, así como, cuando sea viable, para la separación y purificación de algún componente. Asimismo, con esta última finalidad, resulta imprescindible y de mayor eficacia la cromatografía de gases preparativa.

El control de las fracciones obtenidas se realiza por cromatografía de gases, que además suministra suficiente información para poder elegir la técnica instrumental más idónea para la identificación de los distintos componentes.

Cuando se consigue aislar un producto puro, y en cantidad suficiente, se puede aplicar la técnica o técnicas más convenientes, que el químico orgánico utiliza corrientemente para la determinación de estructuras, en especial, las espectroscopías de infrarrojo, visible-ultravioleta y resonancia magnética nuclear.

En fracciones enriquecidas es especialmente útil para la identificación la cromatografía de gases, cuando se dispone de - patrones. No obstante, en este trabajo se ha utilizado como técnica fundamental el acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas, que, sin ninguna duda, es la más apropiada para la identificación de los componentes en mezclas complejas, como las que constituyen los aceites esenciales.

II PARTE EXPERIMENTAL

II.1.- ACEITES ESENCIALES ESTUDIADOS

En la Tabla I se muestran las especies de Teucrium, cuyos aceites hemos estudiado. En primer lugar aparece una signatura: - la primera cifra indica la última del año de recolección, a continuación una T, después un número que indica la especie, y cuando - se trata de más de una muestra, un número de orden. En la segunda columna aparece el nombre de la especie, en la tercera el lugar de recogida, en la cuarta la fecha de recolección y por último el - rendimiento.

Como podemos observar, del T. capitatum se han obtenido - veintisiete muestras de aceite de diferentes procedencias. Se trata de una especie caracterizada por presentar una gran variedad - morfológica y cariológica. Es muy posible que parte del material estudiado en este trabajo procedente de la costa mediterránea pertenezca a la subsp. gracillimun: Cartagena y Aguilas-Mazarrón (Murcia), La Cañada y Eliana-Ribarroja (Valencia) y El Altet (Alicante), que se diferencia por el color purpúreo o rosado de sus flores. El resto del material estudiado de esta especie pertenece probablemente a los citodemos diploide y tetraploide, pero al no conservar el testimonio difícilmente podemos diferenciarlo.

En el caso del T. carolipaui, es muy posible que la planta estudiada de San Juan de los Terreros sea el T. carolipaui C. -

Vicioso ex Pau, subsp. fontqueri (Sennen) Rivas-Martínez. Para -
asegurarle habría que estudiar el testimonio.

Del T. gnaphalodes se han estudiado nueve muestras, dos -
del T. pseudochamaepitys, y dos del T. chamaedrys, todas ellas de
distinta procedencia o fecha de recolección.

El T. aureum subsp. latifolium (Willk.) Puech, según Valdés Bermejo es el nombre correcto para la planta que nosotros -
habíamos clasificado como T. homotricum. Por otra parte, el T. aureum Schreber de la Sierra de Cázulas debe ser casi sin duda el T. aureum subsp. angustifolium (Willk.) Puech.

Valdés Bermejo nos aclara también que el T. lusitanicum y
el T. subtriphyllum son la misma planta: el primero es el nombre
correcto.

En la clasificación botánica que aparece en la Introducción
se exponen dentro de cada sección las especies estudiadas por nosotros.

T A B L A I

Especies del género Teucrium estudiadas

SIGNATURA	ESPECIE	ORIGEN	COSECHA	RENDIMIENTO % EN ACEITE.
5T1/1	<u>T. capitatum L.</u>	Hellin (Albacete)	7-75	
7T1/1	"	Vaciamadrid (Madrid)	7-77	0,23
7T1/2	"	Cartagena (Murcia)	6-77	0,20
7T1/3	"	Arganda (Madrid)	6-77	0,21
8T1/1	"	Vaciamadrid (Madrid)	5-78	0,1
8T1/2	"	"	6-78	0,62
8T1/3	"	"	6-78	0,1
8T1/4	"	"	7-78	0,1
8T1/5	"	Puerto de Almanza (Albacete)	6-78	0,1
8T1/6	"	La Cañada (Valencia)	6-78	0,16
8T1/7	"	Elizana-Ribarroja (Valencia)	6-78	0,14
8T1/8	"	El Altet (Alicante)	6-78	0,24
8T1/9	"	Morata-Valdelaguna (Madrid)	5-78	0,1
8T1/10	"	Villena (Alicante)	6-78	0,16
8T1/11	"	Dehesa de Arganda (Madrid)	6-78	0,1
8T1/12	"	Tarancón (Cuenca)	6-78	0,1
8T1/13	"	Sierra de Corbera (Valencia)	6-78	0,1
8T1/14	"	Cantera de Morata de Tajuña (Madrid)	7-78	0,1

Especies del género Teucrium estudiadas

SIGNATURA	ESPECIE	ORIGEN	COSECHA	RENDIMIENTO % EN ACEITE.
9T1/1	<u>T. capitatum</u> L.	Vaciamadrid (Madrid)	6-79	0,5
9T1/2	"	Campo Real-Carabana (Madrid)	6-79	0,1
9T1/3	"	Carabana (Madrid)	6-79	0,1
9T1/4	"	Campo Real-Carabana (Madrid)	6-79	0,1
9T1/5	"	Arganda-Morata (Madrid)	6-79	0,1
9T1/6	"	Aguilas-Mazarrón (Murcia)	7-79	0,12
9T1/7	"	Yepes (Toledo)	7-79	0,1
9T1/8	"	El Altet (Valencia)	5-79	0,17
9T1/9	"	Tobarre-Hellín (Albacete)	7-79	0,15
7T2/1	<u>T. eriocephalum</u> Willk.	Adra (Almería)	7-77	0,30
7T3/1	<u>T. lanigerum</u> Lag.	Mazarrón-Aguilas (Murcia)	5-77	-
7T4/1	<u>T. carolipauli</u> C. Vicioso ex Pau subsp. fontqueri	San Juan de los Toreros (Almería)	7-77	0,17
7T5/1	<u>T. cheridemi</u> Sandwith	Cabo de Gata (Almería)	7-77	0,25
8T6/1	<u>T. gnaphalodes</u> L'Hér	Cerro de Yepes (Toledo)	4-78	0,1
8T6/2	"	Puerto de Cabrejas (Cuenca)	6-78	0,16
8T6/3	"	Marranco del Infierno (Madrid)	5-78	0,1
8T6/4	"	Monete-Almansa (Albacete)	6-78	0,12
8T6/5	"	Teruel	6-78	0,18

Especies del género Teucrium estudiadas

SIGNATURA	ESPECIE	ORIGEN	COSECHA	RENDIMIENTO EN ACEITE.
8T6/6	<u>T. gnaphalodes</u> L'Hér	Carretera de Ouenza, km 60	6-78	0,1
9T6/1	" "	Campo Real-Garabaña (Madrid)	6-79	0,17
9T6/2	" "	Dehesa de Arganda (Madrid)	6-79	0,16
9T6/3	" "	Barranco del Infierno (Madrid)	5-79	0,15
8T7/1	<u>T. pseudochamaepitys</u> L.	Morata-Valdeleguna (Madrid)	7-78	0,01
9T7/1	" "	Arganda-Morata (Madrid)	6-79	0,01
8T8/1	<u>T. pumilum</u> L.	Puentidueña del Tajo (Madrid)	6-78	0,14
8T9/1	<u>T. aureum</u> subsp. <u>latifolium</u> (Willk.) Fuech (= <u>T. homotricum</u>)	Corbera (Valencia)	6-78	0,1
9T9/1	" "	Sierra de Crevillente (Alicante)	5-79	0,1
8T10/1	<u>T. chamaedrys</u> L.	Cantera de Morata de Tajuña (Madrid)	6-78	0,01
9T10/1	" "	" " " "	6-79	0,01
9T11/1	<u>T. lusitanicum</u> Schreber	Antequera (Málaga)	6-75	0,1
9T12/1	<u>T. aureum</u> Schreber	Sierra de Cázulas (Granada)	6-79	0,1
9T13/1	<u>T. subtriphyllum</u> Lag.	Granada	6-79	0,1

II.2.- METODOS INSTRUMENTALES

En este apartado describiremos, las técnicas y aparatos - que hemos empleado o puesto a punto, las condiciones específicas de trabajo en cada una de las técnicas y los criterios seguidos - en el análisis cualitativo y cuantitativo de los componentes de - los aceites esenciales estudiados.

II.2.1.- METODOS DE OBTENCION Y FRACCIONAMIENTO DEL ACEITE

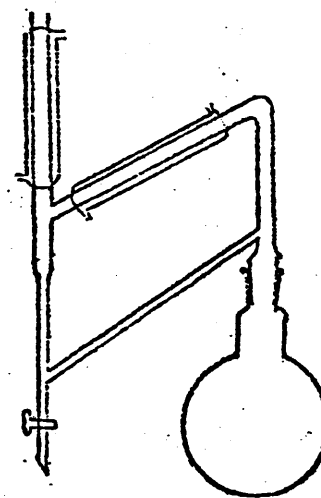
II.2.1.1.- Obtención del aceite

Una de las características fundamentales de un aceite esencial es su relativa volatilidad. Cuando interesa separar de un material los productos causantes de su aroma, un paso necesario a - seguir es una destilación, ya que los productos que llegan a producir una sensación olfativa, deberán tener una cierta volatilidad, y podrán separarse por esta técnica de los no volátiles.

Hemos elegido el arrastre de vapor, porque este sistema es el más empleado en la obtención de aceites esenciales, ya que la mayoría de sus componentes hierven entre 150 - 300° C.. Si se destilaran a temperaturas muy altas, muchos de los componentes podrían descomponerse, oxidarse o resinificarse. La destilación en vapor - de agua, es una forma particular de realizar esta operación, que - por ser un proceso mucho más suave, ocasiona pocos cambios drásticos en el aceite.

En nuestro caso particular, partimos de plantas secas y - de una cantidad pequeña. El aparato que hemos empleado es de tipo

Clavenger (fig. 2), aunque modificado por nosotros. Su objetivo es el de realizar el arrastre en corriente de vapor, con reciclación del agua. La pequeña cantidad de agua empleada permite recoger el aceite sin tener que introducir ningún disolvente, - aunque la cantidad obtenida en cada operación sea muy pequeña.



(fig. 2)

II.2.1.2.- Fraccionamiento de los aceites

Uno de los mejores procedimientos para la obtención de - fracciones enriquecidas del aceite es la destilación al vacío. - Para esta eventualidad contábamos con un destilador automático - de buda rotatoria PERKIN-ELMER, modelo 251, de gran eficacia. Como en nuestro trabajo solo podríamos disponer de pequeñas cantidades de planta, que conducían a rendimientos muy bajos de aceite, el - aparato resultaba demasiado grande para destilar cantidades del - orden del gramo, en el mejor de los casos.

Por ello, la técnica fundamental que hemos utilizado para la obtención de fracciones enriquecidas o, en algunos casos de - componentes puros ha sido la cromatografía en columna. El control de las fracciones se ha realizado por cromatografía de gases. La columna de tamaño apropiado, se carga con 30 g. de gel de sílice de 0,063 - 0,200 mm. (70-230 mallas ASTM), por gramo de material. Como eluyentes se ha empleado hexano, aumentando gradualmente su

polaridad con cantidades crecientes de éter. Al final se eluye con metanol para arrastrar los materiales más polares.

Además de las columnas clásicas se han utilizado también columnas cortas. Las columnas son de gran diámetro (45 mm. o más), rellenas con gel de sílice de placa fina G de Merck, aproximadamente unos 30 g. por gramo de material. Se somete la columna a una sobrepresión de unos 30 cm. de agua, para facilitar la elución.

Para la separación de componentes puros la técnica mas eficaz que hemos utilizado, en casi todos los casos, ha sido la cromatografía de gases preparativa. El aparato, usado por nosotros, ha sido un cromatógrafo de la firma PERKIN-ELMER, modelo F-21 con detector de ionización de llama. En la mayor parte del trabajo se usó como fase estacionaria Carbowax 20 M. Estas columnas se han preparado con gradiente de concentración de fase líquida de un 4 al 7 % sobre Chromosorb G (60-80 mallas), en cuatro unidades de columna en forma de U de 0,95 m.. En otros casos se ha utilizado silicona SE-52 al 5 % sobre Chromosorb G en columnas de 2 m. de longitud. En todos los casos las columnas han sido de acero inoxidable de 9,5 mm. de diámetro exterior y 8 mm. de diámetro interior.

En general se ha trabajado a temperatura isoterma. Con las columnas de Carbowax 20 M, para compuestos polares 170° C. y para compuestos menos polares una máxima de 140° C.. Con fase estacionaria silicona SE-52, a 130° C., se ha conseguido la separación de algunos compuestos polares.

Se ha utilizado nitrógeno como gas portador, a la presión adecuada según el tipo de columna empleada.

II.2.2. METODOS DE IDENTIFICACION Y DETERMINACION CUANTITATIVA

II.2.2.1.- Cromatografía de gases (GC)

La cromatografía de gases es la técnica mas eficiente para la separación de los componentes de mezclas tan complejas, como son los aceites esenciales. Por ello, ha sido la que fundamentalmente hemos utilizado en este trabajo para la identificación de los componentes y en especial para su determinación cuantitativa. También recordaremos su aplicación para la obtención de compuestos puros, la cual hemos citado en el apartado II.2.1.2.

Desde un punto de vista práctico conviene advertir que para conseguir el máximo rendimiento de la GC, es necesaria la elección del tipo de columna mas adecuado para cada problema particular. En nuestro caso, las columnas que presentan la máxima eficacia son las capilares de vidrio. Entre ellas, basados en consideraciones que expondremos en un próximo apartado, seleccionamos las más idóneas, según se apliquen para el análisis cromatográfico rutinario o para la introducción de muestras en el espectrómetro de masas.

a) Identificación de los componentes

El método clásico para identificar por GC una sustancia - consiste en comparar su retención con las retenciones de especies definidas (patrones), siendo fundamental, por consiguiente, la - medida experimental exacta de esta constante. Los cromatografistas, se han esforzado en buscar el parámetro de retención más independiente de las condiciones operatorias, para que la medida sea más

facilmente reproducible. De ellos, los más recomendados son: la "retención relativa" y el "índice de retención o de Kovats". Estos parámetros no son muy adecuados, sin embargo, en nuestro caso, - puesto que junto a los componentes terpénicos, existen también - alifáticos y aromáticos. Debido a esta complejidad, habrá numerosas coincidencias entre las retenciones relativas o índices de - retención de "posibles" componentes y las que corresponden a los realmente existentes en el aceite.

Con fines de identificación, hemos preferido por este motivo la técnica del "enriquecimiento de picos", que consiste en mezclar la muestra, con una pequeña cantidad de patrón, y comparar - el cromatograma de la mezcla con el de la muestra. Esta técnica, es mucho más precisa que el uso de retenciones relativas e índices de retención, pero presenta el inconveniente de conducir a identificaciones falsas en el caso de que los dos componentes tengan - exactamente el mismo tipo de retención. Para confirmar la identificación, se repite la experiencia utilizando otra fase estacionaria. La única limitación que presenta esta técnica, estriba en la dificultad de disponer de los patrones necesarios, por lo que no ha - sido posible emplearla en todos los casos.

b) Análisis cuantitativo

La cromatografía de gases es una técnica que permite la - determinación cuantitativa rápida de los diversos componentes de una mezcla compleja, aunque no hayan sido identificados. Los cálculos cuantitativos, se basan siempre en la medida de áreas, admitiendo que entre el área de un pico y la cantidad de componente - que llega al detector para producirlo existe la siguiente relación:

$$Q_i = A_i \cdot K_i$$

donde Q_i es la cantidad del componente i , A_i es el área del pico i y K_i es el factor de sensibilidad que depende de la estructura del compuesto y de la sensibilidad del detector empleado. En nuestro caso, al utilizar un detector de ionización de llama, y, teniendo en cuenta los componentes habitualmente presentes en los aceites esenciales, hemos adoptado la simplificación de suponer K_i constante para todos los picos de un cromatograma. Utilizando K para el valor de este factor de sensibilidad, tendríamos $Q_1 = A_1 \cdot K$, $Q_2 = A_2 \cdot K$, etc.. De aquí:

$$\frac{Q_1}{Q_2} = \frac{A_1}{A_2} \quad (1)$$

lo que indica que existe una proporcionalidad directa entre las cantidades de los diversos componentes y las áreas de sus picos. Para un componente i podríamos poner:

$$\frac{Q_i}{\sum Q_i} = \frac{A_i}{\sum A_i}$$

cuyo primer término es la concentración de i en el aceite, y el segundo puede calcularse a partir del cromatograma. Otra técnica empleada es la del patrón interno. Consiste en añadir al aceite esencial una cantidad previamente pesada de un patrón, con el fin de obtener una mezcla en la que conocemos, para un compuesto (el patrón), su concentración relativa. Si en la ecuación (1) dividimos el numerador y denominador del primer término por Q_i , obtendremos:

$$\frac{C_1}{C_2} = \frac{A_1}{A_2}$$

donde C_1 y C_2 son las concentraciones en el aceite de los compuestos 1 y 2. A partir de esta ecuación, y, si conocemos la concentración del patrón, podemos calcular, mediante la medida de las áreas, los porcentajes de los diferentes componentes en la mezcla y en la muestra original.

La medida de las áreas de los picos se ha realizado por el método general, multiplicando la altura del pico por su anchura a la semialtura.

c) Preparación de las columnas capilares

Consideraciones generales.- La columna es la parte fundamental del equipo cromatográfico, y es el factor más importante, - que el químico analítico puede variar. Son conocidas las ventajas de las columnas capilares en la cromatografía de gases, en su - aplicación analítica. De ellas las mas utilizadas han sido las columnas capilares de pared recubierta (WCOT). La mayor ventaja es que la fase líquida se aplica en forma de película muy fina sobre la pared interna de la columna, por lo que el gas portador tiene un paso abierto y no restringido a lo largo de toda la columna. - Debido a esta gran permeabilidad, la caída de presión a lo largo de la columna es menor que en las columnas de relleno de la misma longitud y altura equivalente a un plato teórico, lo cual permite el uso de columnas muy largas de muy alta eficacia. Por otra parte, el tiempo de análisis con una columna capilar larga es a menudo - menor que el obtenido en una columna de relleno más corta.

Las columnas capilares WCOT, presentan dos problemas: su pequeña capacidad y su gran relación de fases. Ambas están relacionadas con el hecho de que la cantidad de fase líquida en la columna es muy pequeña, y no puede aumentarse sin que resulte una película mucho más gruesa.

Las columnas SCOT (support-coated open tubular), representan la realización de una idea propuesta por Golay (15) en 1.960. En este tipo de columnas una capa de partículas muy fina de un -

material de soporte, sobre la cual se deposita la fase líquida - recubre la pared interna de la columna. Así, se mantiene tanto la delgadez de la película de fase líquida como la elevada permeabilidad de las columnas capilares de pared recubierta (WCOT), pero gracias al incremento de su área superficial pueden contener mayor cantidad de fase estacionaria. De este modo, las columnas SCOT - aceptan sin sobrecarga, mayor cantidad de muestra que las WCOT, lo que facilita el análisis de trazas, permite el empleo de detectores de baja sensibilidad, y la combinación con otras técnicas de análisis tal como la espectrometría de masas.

En el estado actual de las técnicas cromatográficas, el detector de ionización de llama presenta la ventaja por una parte de tener una respuesta similar para los diversos compuestos orgánicos, lo que permite utilizarle en análisis cuantitativo, y por otra su gran sensibilidad, que permite obtener cromatogramas satisfactorios aún en el caso de emplear columnas capilares WCOT.

En el acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría - de masas (GC-MS), el espectrómetro de masas se comporta como un detector de gran sensibilidad. Sin embargo, en los casos de componentes traza, es frecuentemente difícil registrar un espectro satisfactorio. Cuando se trata de problemas sencillos, suele ser posible - sobrecargar la columna para permitir que llegue al espectrómetro - mayor cantidad de componente. Con mezclas complejas, como los aceites esenciales, la distorsión de los picos creada por la sobrecarga interfiere en el análisis del resto de los componentes. Por este - motivo, es del mayor interés para nuestro trabajo utilizar columnas que, sin pérdida importante de su eficacia, permitan el análisis de mayores cantidades de muestra que las WCOT lo que puede conseguirse con las columnas SCOT y de pared atacada.

Los beneficios potenciales de las columnas capilares de vidrio en la cromatografía de gases no han sido ampliamente explotados debido a sus problemas tecnológicos e irreproducibilidad asociados con su elaboración. La no uniformidad e inestabilidad de las películas de fase líquida, especialmente en el caso de fases polares, cuando recubrimos superficies lisas, constituye una gran limitación a su eficacia. El mayor problema consiste en sus pobres propiedades de mojabilidad que son una consecuencia de sus altas tensiones de superficie. Estas dificultades se pueden superar modificando la superficie del vidrio antes del recubrimiento. Esto se puede conseguir tanto por deposición de una capa adherente de partículas (SCOT), como por ataque de la superficie del vidrio.

Desde el punto de vista teórico, se puede llegar a comprender las ventajas de las columnas SCOT de dos maneras: (A) Estudiando la influencia de la resistencia a la transferencia de masa en la fase estacionaria sobre la eficacia, y (B) la influencia de la relación de fases sobre la eficacia.

A).- En el Segundo Symposium Internacional de Cromatografía de Gases, Golay (16) describió la relación entre la altura equivalente a un plato teórico (HEPT o h), y la velocidad lineal promedio del gas portador (\bar{u}), y otros términos. La ecuación de Van Deemter, que aplicó Golay a las columnas capilares se puede explicar de una forma simplificada como

$$h = \frac{B}{\bar{u}} (C_G + C_L) \bar{u}$$

donde B representa el termino que describe la difusión longitudinal gaseosa y C_G y C_L la resistencia a la transferencia de masa en la fase gaseosa y líquida, respectivamente. Según Golay estos términos pueden expresarse por

$$B = 2 D_G$$

$$C_G = \frac{1 + 6k + 11k^2}{(1+k)^2} \frac{r^2}{24 D_G}$$

$$C_L = \frac{k^3}{6(1+k)^2} \frac{r^2}{K^2 D_L}$$

donde D_G y D_L son los coeficientes de difusión en la fase gaseosa y líquida, respectivamente, k y K , el factor de capacidad y el coeficiente de reparto, y r , el radio de la columna.

Una de las diferencias más importantes entre las columnas de relleno y las capilares abiertas se basa en el hecho de que C_L es el término dominante en las de relleno, mientras que en las capilares es C_G . En otras palabras, la eficacia de una columna capilar se controla por la transferencia de masa en la fase gaseosa, mientras que en una de relleno está controlada por la transferencia de masa en la fase líquida.

Para una columna capilar la relación entre el coeficiente de reparto, y el factor de capacidad, relación de fases (β), radio interno de la columna (r) y espesor de la película de fase líquida (d_f) puede expresarse por

$$K = \beta k = \left(\frac{r}{2 d_f} \right) k$$

Sustituyendo esta expresión en la ecuación correspondiente se deducen las siguientes relaciones para C_L :

$$C_L = \frac{K}{(K + \beta)^2} \frac{r^2}{6 \beta D_L}$$

$$C_L = \frac{2 k}{3 (1 + k)^2} \frac{d_f^2}{D_L}$$

Si se tiene en cuenta esta última ecuación se observa que el valor de C_L es directamente proporcional al cuadrado del espesor medio de la película, admitiendo naturalmente que el valor del factor de capacidad no se reduce de una forma proporcional. Desde el punto de vista teórico, sería deseable reducir el valor del espesor con un aumento simultáneo del factor de capacidad, ya que de este modo deben reducirse los dos términos de la última ecuación.

El problema, en el caso de las columnas WCOT (donde la pared interna de la columna está recubierta directamente con la fase líquida), es que el valor de k puede aumentarse solo por disminución del diámetro de la columna o incrementando el espesor medio de la película. Esto último está en contradicción con el deseo previo (es decir, con la reducción del espesor de la fase líquida), mientras que la primera posibilidad haría imposible la aplicación práctica de las columnas.

Como consecuencia, Golay estableció que la única posibilidad es incrementar la superficie interna de la columna sin aumentar de una forma significativa el diámetro de la misma. De acuerdo con esto, la mejor solución posible sería depositar un soporte inerte poroso sobre la pared interna de la columna, y recubrir ésta nueva superficie con la fase líquida, lo que justifica la introducción en la práctica de las columnas SCOT.

B).- Para estudiar la influencia de la relación de fases sobre la eficacia, hemos de tener en cuenta dos ecuaciones básicas de la cromatografía de gases. La primera (ya expuesta en el aparta-

do A), expresa la relación de fases (β) en función del coeficiente de reparto (K) y del factor de capacidad (k) y la segunda la relación entre el número de platos teóricos (n_{req}) para una resolución (R) y la retención relativa (α), factor de capacidad del segundo pico (k), longitud de columna (L) y HETP:

$$K = \beta k$$

$$n_{req} = \frac{L}{h} = 16 R^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{k + 1}{k} \right)^2$$

Recordemos que para las columnas WCOT la relación de fases puede calcularse según:

$$\beta = \frac{r}{2 d_f}$$

Se sabe que el coeficiente de reparto es independiente del tipo de columna, y, en el caso de un soluto dado, depende solo de la fase líquida y de la temperatura de la columna. Lo mismo ocurre para la retención relativa (α). De la primera de las ecuaciones se deduce que, si comparamos diferentes tipos de columnas que contienen la misma fase líquida y operamos a la misma temperatura, el factor de capacidad de la columna que presente mayor relación de fases será menor. Por otra parte, según la segunda ecuación está claro que en el caso de factores de capacidad mas pequeños, son necesarios más platos teóricos para conseguir la separación del mismo par de solutos. Así, para la misma longitud, la resolución será peor en columnas donde el factor de capacidad es menor.

Las columnas capilares tienen la desventaja de que debido a su alta relación de fases, el factor de capacidad del mismo soluto será una fracción del observado en una columna de relleno. Este problema se resuelve gracias a su gran longitud. Sin embargo es -

51

evidente que si se pudieran construir columnas de más pequeña relación de fases sin disminuir su eficacia, se podría conseguir - mejor resolución con la misma longitud de columna, o la misma resolución en menor tiempo por aumento de la velocidad del gas portador.

El único modo de reducir el valor de relación de fases es aumentar el volumen de la fase líquida con relación a la fase gaseosa. Como hemos dicho con anterioridad la única solución sin aumentar el espesor de la película de fase líquida es incrementar la - superficie de recubrimiento.

Métodos de recubrimiento.- Las columnas capilares de vidrio se han construido en nuestro laboratorio, estirando tubos de vidrio Pirex de 7,8 mm. de diámetro exterior y 2 mm. de diámetro interior, con un aparato de la firma Hupe. Se ha utilizado el método de recubrimiento dinámico para cargarlas. Mediante este procedimiento la solución de la fase líquida o la suspensión de partículas porosas se fuerza a través de la columna con la ayuda de una presión de un gas inerte.

En el caso de las columnas SCOT la suspensión se prepara - por el método de Horvath (17) modificado. Para ello, se disuelve - la fase líquida en un disolvente adecuado, y se suspenden en esta solución las partículas de soporte sólido. Después de recubierta - la columna por el método dinámico, el disolvente se evapora con un gas inerte a baja presión. En este proceso, la fase líquida disuelta recubre las partículas de soporte sólido depositadas. Hay que - conseguir una suspensión estable de partículas, para evitar el peligro de obstrucción durante el proceso de recubrimiento. Para ello es fundamental la elección del tipo de disolvente, que ha de ser - de gran densidad, por lo que se suele utilizar cloroformo, el tama-

ño de partícula que debe ser de grano muy fino y la elección de - una concentración adecuada de fase líquida y soporte sólido. Un - procedimiento que ha resultado mas práctico es el recubrimiento - dinámico en dos pasos (18), mediante el cual se hace pasar prime- ramente una suspensión formada por la cantidad adecuada del sopor- te con una pequeña proporción de fase líquida. En un segundo paso la columna se recubre con fase líquida, también mediante el proce- dimiento dinámico.

Para reducir los fenómenos de actividad superficial que - presenta la pared del vidrio en el caso de las columnas WCOT y - atacadas, o los soportes de las columnas SCOT, se añaden a la solu- ción de fase líquida, agentes tensoactivos tal como el BTPPC en una proporción de 0,1 a 0,2 %.

Una vez preparadas las columnas se acondicionan sometiendo- las a una elevación lenta de temperatura, hasta alcanzar unos 25º - menos que la máxima de utilización de la fase estacionaria.

Tipos de columnas preparadas.- A continuación exponemos los resultados obtenidos con las columnas que hemos preparado para nues- tro estudio analítico. Como ya hemos dicho nuestro trabajo ha ido dirigido a la obtención de columnas con la mayor resolución y efica- cia posibles para el análisis cualitativo y cuantitativo en GC. Es- tas características las presentan las columnas capilares de tipo - WCOT. De estas exponemos tan solo tres ejemplos de las que se han preparado con el objeto de comparar resultados. En la práctica ade- más se han utilizado otras columnas de características similares. - Por otra parte hemos tratado de conseguir columnas apropiadas para su utilización en cromatografía de gases, cuando va acoplada a la espectrometría de masas, es decir, columnas con mayor capacidad de

carga. Con esta finalidad se han ensayado distintos tipos de soportes cromatográficos para la preparación de columnas SCOT, y, - en algunas ocasiones, se ha procedido a un pretratamiento de la pared del vidrio antes de ser recubierta con la fase líquida, con objeto de obtener en ambos casos un incremento del área superficial de la columna.

El resultado de este estudio se resume en la tabla II: En el grupo I figuran las características de las columnas WCOT, en el grupo II las correspondientes a las SCOT, y en el III, las que se refieren a las de pared pretratadas.

Para estimar el valor de la cantidad de fase estacionaria que queda en la columna, utilizamos la medida del espesor promedio de la película (d_f), que se ha calculado por métodos cromatográficos. En algunos casos, haremos mención a la sobrecarga que presentan los picos correspondientes a muestras de hidrocarburos, de forma solamente cualitativa, cuando la cantidad de fase líquida es pequeña.

GRUPO I.- Como se puede observar en la tabla II, contiene las columnas de máximas eficacias (menores valores de HETP) y con menores espesores de fase líquida (d_f). La columna número 1 representa un caso límite de buena eficacia, sin embargo sus picos presentan gran sobrecarga. Obsérvese el valor de la eficacia de la columna número 3, relativamente bajo, para este tipo de columna, a pesar de haber sido preparada de la misma forma que las números 1 y 2 lo cual demuestra la dificultad de conseguir los mismos resultados, aún operando en condiciones similares.

GRUPO II.- Haremos una descripción de las columnas de este

T A B L A II

Columna nº	GRUPO I			GRUPO II					GRUPO III				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
L (m)	24	52	60	32	44	30	30	35	23	23	32	50	46
di (mm)	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2
Soporte	-	-	-	Chrom.W	vidrio	vidrio	l.de	l.de	sepioli-	-	-	-	-
Pretratamiento	-	-	-	-	-	-	-	-	vidrio	vidrio	ta	-	-
df (Å)	460	353	451	1560	950	800	718	1190	1070	5600	830	1750	929
n-Alcanos	15,16	15,16	13,14	13,14		16,17	14,15	16	15,16	12,13	14,15	15,16	16,17
n	175000	62000	120000	54000	27800	5570	8680	14500	4616	15000	64000	62500	25000
HETP	0,13	0,83	0,50	0,59	1,52	5,38	3,45	2,41	4,98	1,52	0,50	0,80	1,84

L = longitud

di = diámetro interno

df = espesor medio de fase estacionaria medido por métodos cromatográficos

Fase líquida = Carbowax 20 M

grupo, destacando el tipo de soporte utilizado sobre todo si este no es de los que se utilizan frecuentemente en los rellenos de columnas.

En la columna número 4, donde se utiliza como soporte el Chromosorb W molido, se han obtenido los máximos espesores de fase estacionaria. La columna presenta además buenas características en lo que se refiere a su eficacia, y carencia de adsorción.

El vidrio molido, utilizado para la preparación de las columnas 5 y 6, ha resultado ser un soporte de malas características por no formar buenas suspensiones. Lo hemos utilizado a diferentes concentraciones, y se observa una disminución de la eficacia al aumentar la concentración, sin que con esto se obtenga el consiguiente aumento de espesor de fase, con lo que se incrementa el riesgo de obstrucción.

La lana de vidrio molida forma buenas suspensiones a concentraciones relativamente bajas de soporte, por lo que no se consiguen grandes mejoras en cuanto a su espesor de fase (número 7). Con este soporte las eficacias obtenidas son muy bajas, en lo que puede influir grandemente el hecho de ser un soporte sobre el cual se manifiesta fenómenos de adsorción. La columna número 8 se ha recubierto utilizando la lana de vidrio tratada con mezcla crómica, y se ha pasado varias veces la suspensión de partículas por la pared de la columna. Con esto se ha conseguido un incremento de espesor de fase, sin embargo, la eficacia de la columna es muy baja, a lo que puede contribuir considerablemente la escasa uniformidad de la película que se ha podido obtener al haber repetido el proceso de recubrimiento varias veces.

La sepiolita micronizada posee gran área superficial y un adecuado tamaño de partícula. Sin embargo, solo se puede utilizar a concentraciones bajas pues con este soporte aumenta considerablemente el peligro de obstrucción, por acumulación de partículas en el frente de la columna. La columna número 9 se ha preparado con una suspensión de elevada concentración, dispersada en un baño de ultrasonido y dejada reposar. Las partículas mas pequeñas que quedaban en suspensión son las que se han utilizado para el recubrimiento. Las columnas recubiertas con este soporte al igual que las anteriormente citadas, presentan eficacias muy bajas, debido a fenómenos de adsorción.

GRUPO III.- En este grupo se incluyen las columnas que han sido sometidas a un tratamiento previo de pared antes del recubrimiento con la fase líquida. Hemos utilizado como agente atacante el fluoruro amónico a diferentes concentraciones y tiempos de calentamiento a la temperatura de 400° C. Se observa que existe una influencia de estos factores en los resultados obtenidos. Las columnas así preparadas presentan mejores características en cuanto eficacia que las del grupo II, aunque tienen el inconveniente de su adsorción superficial.

En general, el incremento de espesor de fase estacionaria conseguido en las columnas SCOT ha llevado consigo una disminución de su eficacia, en lo que influye, en parte, el propio método de recubrimiento. Ya se ha comentado la gran limitación que presentan las columnas capilares, debido a su escasa reproductividad, ya que en el proceso de vaciado de la columna influyen factores difíciles de controlar, que afectan a la uniformidad de película de fase estacionaria obtenida. En columnas, donde el procedimiento de recubrimiento es en dos pasos, sus efectos se suman y la dificultad es

mayor.

Este estudio nos ha valido tanto para el trabajo actual, - para el cual hemos elegido las columnas de mejores características para cada caso particular, como para posteriores estudios donde - seleccionaremos con mayor conocimiento y experiencia tipos de columnas mas adecuadas.

d) Condiciones de trabajo

En nuestro estudio analítico, hemos utilizado un cromatógrafo de la firma Perkin - Elmer, modelo 990, con detector de ionización de llama.

Como gas portador se ha utilizado nitrógeno, en cada caso, a la presión adecuada que corresponda a velocidades de gas portador que conduzcan a eficacias máximas.

La temperatura, es el otro factor con el que jugamos, para conseguir mejores separaciones de picos. En general, empleamos temperatura programada, la mayoría de la veces de 80° a 170° C, a - velocidad de 2 o 3°/min. En fracciones con componentes de alta - volatilidad se mejora la separación, utilizando temperaturas mas bajas en condiciones isotérmicas.

Como se ha referido con anterioridad en cromatografía de - gases analítica se han empleado columnas de tipo WCOT, con Carbowax 20 M como fase estacionaria. Además de las señaladas en la tabla II se ha utilizado una columna de 45 m. de longitud y 0,2 mm. de - diámetro interno que ha sido la empleada con mayor frecuencia.

II.2.2.2.- Espectrometría de masas (MS)

La espectrometría de masas, ha alcanzado una gran importancia, como medio de identificación y esclarecimiento de estructuras de compuestos orgánicos. Entre los primeros en reconocer el interés de la MS, están los químicos especialistas en aromas, que disponen de un instrumento insustituible para la identificación de componentes volátiles de alimentos, perfumes, etc.. La ventaja que en este campo presenta la MS, frente a otras técnicas instrumentales, es - su extremada sensibilidad, que permite la obtención del espectro, en determinadas condiciones, con cantidades de material del orden del microgramo.

En el análisis de mezclas complejas, el mayor interés de - la MS, radica en la posibilidad de utilizar un sistema de separación previo. Hemos visto, que el sistema de separación más eficaz para problemas como el que nos ocupa, es la GC. El acoplamiento de ambas técnicas, está considerado como el método ideal para la identificación de productos existentes en cantidades traza en mezclas complejas, donde se une al poder separador de la GC la gran sensibilidad de la MS.

Al aplicar el acoplamiento GC-MS al caso de los aceites - esenciales, resulta fácil la identificación, si se dispone del correspondiente patrón. Basta con comparar el espectro de éste, con el obtenido durante la elución del compuesto problema. Además, la identificación puede complementarse mediante el empleo de los tiempos de retención.

Si el compuesto es desconocido y su espectro no coincide - con el de ninguno de los patrones de que disponemos o con los repro-

ducidos en la bibliografía, ha de intentarse una interpretación, lo más completa posible del mismo, para disponer de algunos datos estructurales del compuesto. El esclarecimiento de la estructura, podrá completarse si se logra separar el compuesto de la mezcla, por alguno de los métodos referidos en el apartado II.2.1.2. Una vez - aislado, se podrán aplicar los otros métodos instrumentales de que dispone el químico orgánico.

Para facilitar la aplicabilidad de esta técnica a nuestro trabajo, hemos intentado conseguir, todos los patrones posibles, y hemos registrado sus espectros de masas. También disponemos de una colección de espectros procedentes de la bibliografía, que corresponden a productos de carácter terpénico o de otros que aparecen - frecuentemente en los aceites esenciales.

El espectrómetro de masas utilizado, es un Hitachi Perkin - Elmer, modelo RMU-6MG. Posee tres sistemas de introducción de muestras: directa, por sonda; indirecta, mediante un sistema de vidrio que puede calentarse; y por GC (cromatógrafo de gases de la firma Perkin-Elmer, modelo 990). Para registrar los espectros de los patrones de pureza comprobada, se ha empleado la introducción indirecta; para el resto de los patrones, el aceite original o sus fracciones, el cromatógrafo de gases. En el apartado II.2.2.1, se han detallado ampliamente las características de las columnas que hemos utilizado en el acoplamiento GC-MS.

Para conseguir un registro estable a la luz, hemos representado los espectros con un miniordenador Olivetti P6060.

II.2.2.3.- Espectroscopía infrarroja (IR)

La hemos utilizado fundamentalmente para la obtención de datos estructurales de compuestos desconocidos, aislados en cantidad suficiente para el registro de su espectro. El aparato empleado ha sido un espectrómetro de doble haz de Perkin - Elmer, modelo 257, equipado con dos redes.

II.2.2.4.- Resonancia magnética nuclear (RMN)

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear es una - de las técnicas más utilizadas en la elucidación de estructuras de compuestos orgánicos. En el campo de los productos naturales, ésta es una de las técnicas fundamentalmente empleadas, ya sea la resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN) o de ^{13}C (^{13}C -RMN). Sin embargo, en análisis de aceites esenciales de plantas, cuyo rendimiento en el mismo, generalmente no es superior al 0,3 %, encuentra una difícil aplicabilidad, dada la gran dificultad de obtener la - cantidad de muestra necesaria para registrar su espectro.

No obstante, la ^1H -RMN se ha podido utilizar en algunos - casos, siendo de gran ayuda para la confirmación de estructuras, - cuyos espectros de masas e infrarrojo, no identifican totalmente el compuesto. Cuando no se ha hallado información bibliográfica de un determinado compuesto, los espectros de ^1H -RMN con la ayuda de los masas e infrarrojo nos ha conducido a una caracterización parcial de estructuras, casi nunca a una elucidación completa.

Los espectros se han registrado en un espectrógrafo Varian XL-100-15FT de 100 Mc/seg o en el Varian EM-390 de 90 Mc/seg.

III RESULTADOS Y DISCUSION

III.1.- IDENTIFICACION DE LOS COMPONENTES DE ACEITES ESENCIALES DE PLANTAS DEL GENERO TEUCRIUM

En este apartado, describiremos los componentes separados por cromatografía de gases de los diferentes aceites estudiados, - según el orden de elución en el cromatograma. En cada uno de ellos, se indicarán los métodos que han conducido a su identificación, - cuando se trata de compuestos conocidos. De los componentes que no han podido ser totalmente identificados, se aporta la mayor cantidad de datos estructurales conseguidos por aplicación de las técnicas analíticas que se han podido emplear en cada caso.

1.- Aldehído Isovalérico. Es el primer compuesto que aparece en el cromatograma, en la mayor parte de los aceites, aunque siempre en muy pequeña proporción. Identificado directamente a partir del aceite por su espectro de masas, cuya secuencia de picos figura en - (19, 20).

2.- Su espectro de masas es idéntico al del α -pineno. Sin embargo, dado que su retención no coincide con la del patrón de que se dispone en el laboratorio, no se ha identificado como tal. Posiblemente se trata de un estereoisómero del mismo.

3.- α -Tuyeno. Es un compuesto que solo aparece en cantidades traza

en los aceites. Se ha identificado por su espectro de masas (21).

4.- α -Pineno. Se eluye con n-hexano por cromatografía líquido-sólido en las primeras fracciones. Su retención y espectro de masas coinciden con las del patrón α -pineno. Está presente en la mayoría de los aceites en cantidades mayoritarias, siendo a veces, el componente fundamental.

5.- Canfeno. Aparece en las primeras fracciones correspondientes a hidrocarburos monoterpénicos, obtenidas por cromatografía líquido-sólido. Su espectro de masas coincide con el del patrón. La identificación se confirmó por GC. Por lo general la concentración en los aceites es pequeña.

6.- β -Pineno. Presente también en las primeras fracciones cromatográficas. Su espectro de masas coincide con el del correspondiente patrón. Se confirma la identidad por cromatografía de gases. Su concentración es importante en todos los aceites, y en algunos casos, es el componente mayoritario.

7.- Sabineno. Ha sido identificado por comparación de su espectro de masas con el que figura en (22, 23). Su retención cromatográfica en las columnas utilizadas es muy cercana a la del β -pineno, - por lo que, en algunos aceites no se ha conseguido una buena resolución de ambos picos y no se ha podido calcular por tanto su concentración exacta. Sin embargo, se ha podido deducir que está siempre por debajo del 5%.

8.- Con esta retención cromatográfica se localiza un compuesto, que solo se ha podido encontrar en la especie 7T1/2, a una concentración de un 5,5 %. El estudio de su espectro de masas no ha permitido su

identificación. No obstante, los espectros de un cierto número de compuestos son muy parecidos al de este componente. Como solo se pudo disponer de muy pequeña cantidad de aceite esencial de esta especie, no ha sido posible su aislamiento para su caracterización por otros métodos instrumentales.

9.- Mirceno. Se eluye con n-hexano por cromatografía líquido-sólido. Su espectro de masas coincide con el del correspondiente patrón, - así como su retención cromatográfica. La concentración de este componente es elevada en la mayor parte de las especies.

10.- α -Terpineno. Se ha podido registrar su espectro de masas a pesar de presentar una retención muy cercana a la de componentes de elevada concentración. Su espectro coincide con el obtenido de una muestra de α -terpineno y también, su tiempo de retención.

11.- Limoneno. De forma análoga a los anteriores aparece en las primeras fracciones cromatográficas. Su espectro de masas y su tiempo de retención coinciden con el del patrón. Su concentración es importante en la mayoría de la especies, en algunas ocasiones es el componente fundamental.

12.- β -Felandreno. Como los anteriores se eluye con n-hexano por cromatografía líquido-sólido. Ha sido identificado por comparación de su espectro de masas con el del patrón. Así mismo, coincide su retención cromatográfica.

13.- 1,8-Cineol. Se eluye con n-hexano por cromatografía líquido-sólido, aunque no en las primeras fracciones. Su espectro de masas y su tiempo de retención coinciden con los del patrón. Salvo algunas excepciones es un compuesto minoritario en nuestros aceites.

13'. - De este componente tan solo se dispone de su espectro de masas, que corresponde al de un compuesto típicamente aromático. Posee además un grupo hidroxilo. Sus picos mas característicos coinciden con los de los fenoles, con dos metilos en el núcleo bencénico. Puesto que no se ha podido registrar el espectro de masas del compuesto totalmente puro, es difícil especificar las posiciones - de los grupos sustituyentes.

14.- γ-Terpineno. Se eluye con n-hexano en las primeras fracciones cromatográficas. Su espectro de masas coincide con el del patrón. Su identidad se ha confirmado por GC.

Este compuesto se transforma en p-cimeno por simple contacto con el aire, por lo que podemos considerarlo como su precursor. Es un compuesto minoritario en los aceites esenciales de todas las especies estudiadas.

15 y 16.- Están presentes siempre en los aceites en cantidades minoritarias, y poseen además una retención muy similar por lo que no se han podido identificar.

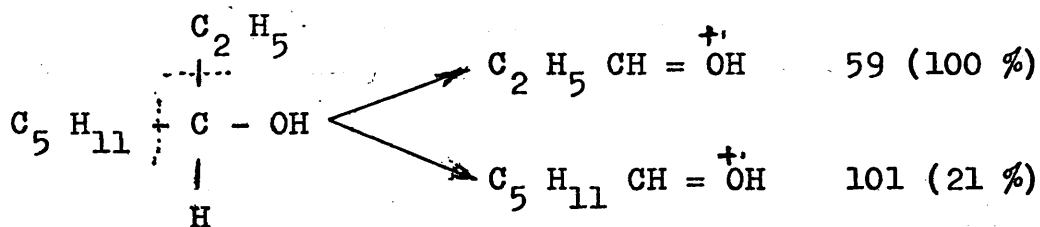
17.- p-Cimeno. Este compuesto aparece en las fracciones de columnas eluidas al aumentar un poco la polaridad del eluyente. Se ha identificado por comparación de su espectro de masas con el de su patrón. Se confirmó su identidad por GC. Su concentración es muy variada - en los diferentes aceites. En algunos casos es el componente fundamental, y en otros aparece en cantidades traza.

18.- Terpinoleno. Su retención cromatográfica y espectro de masas coincide con el de su patrón.

19.- Cetona de artemisia. Se ha registrado su espectro de masas a partir del aceite, donde aparecía a mayor concentración. Coincide con el que figura en la bibliografía (24).

20.- Este compuesto tan solo está en cantidades traza en algunos aceites de los que se disponía de poca cantidad. Por este motivo no se ha podido registrar su espectro de masas.

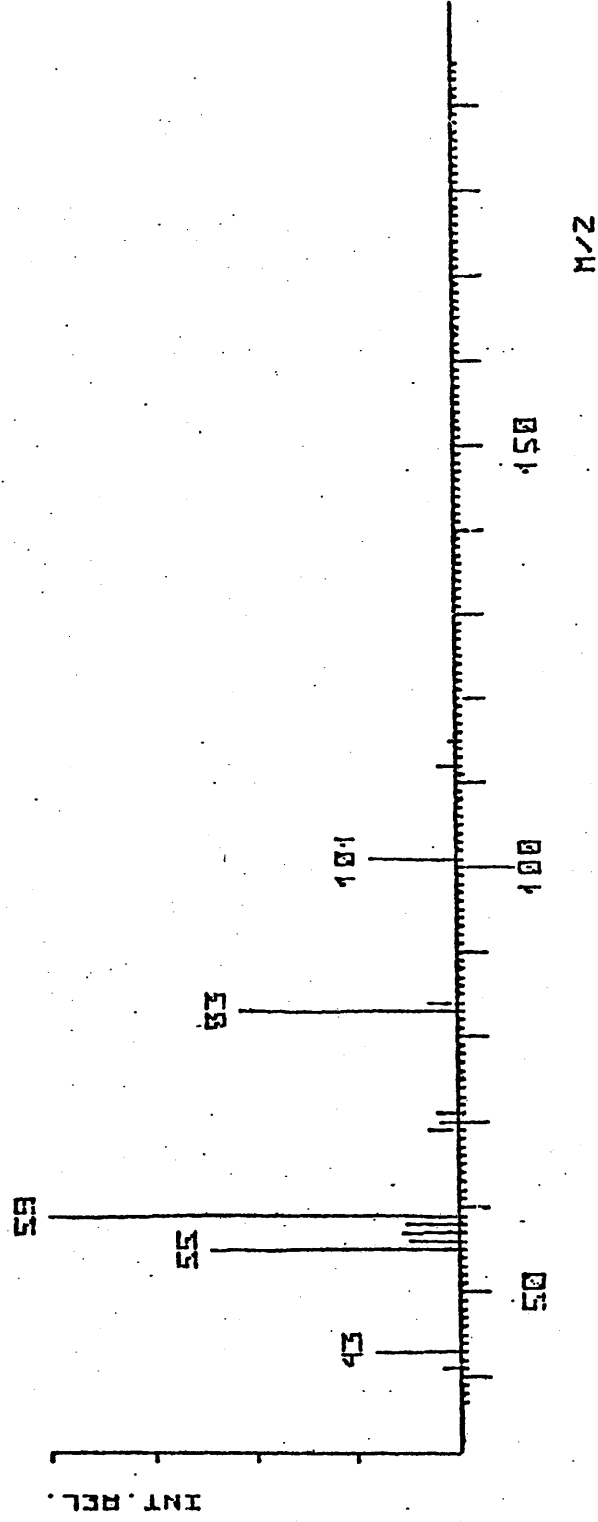
21.- Se ha registrado su espectro de masas (fig. 3) a partir de una fracción cromatográfica de polaridad media. No se observa su ión molecular. El pico de mayor masa de intensidad apreciable, aparece a m/z 101, aunque se observan señales débiles a m/z 112 y 115, que parecen indicar que su peso molecular es 130. Ambas señales corresponden, respectivamente, a la pérdida de agua y de metilo. La ausencia del ión molecular nos sugiere, en principio, un alcohol de cadena larga. Si se considera además, que la fragmentación más importante para estos compuestos es la rotura del enlace C-C contiguo al grupo funcional del grupo alquilo mayor, y, en menor proporción la de los grupos alquilo menores, estaría justificada la presencia abundante de los fragmentos a m/z 59 y 101, de acuerdo con el siguiente esquema:



Resulta también significativo el pico m/z 71 (4,8 %) que correspondería a $\text{C}_5 \text{H}_{11}$.

El pico m/z 56, $[\text{CH}_3\text{---CH}_2\text{---CH}=\text{CH}_2]^+$ puede ser debido a una pérdida de buteno y agua, lo que nos demuestra la existencia de un

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	3.8	58	12.4	83	53.3
43	20.0	59	100.0	84	6.7
55	61.0	69	6.7	101	21.0
56	11.4	70	3.8	112	3.8
57	13.3	71	4.8	115	1.0



COMPONENTE N. 21

(fig. 3)

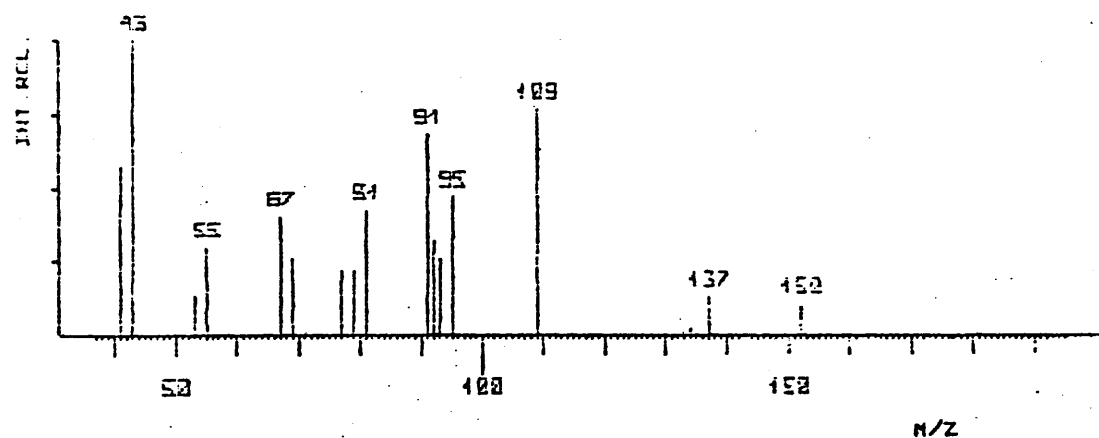
grupo CH_2 en posición 4, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CHOH-CH}_2\text{-R}$. El resto R de la cadena debe ser ramificado, ya que el espectro no corresponde totalmente al del 3-Octanol (25), aunque el parecido existente entre ellos, nos impide descartar esta posibilidad.

22.- Es un componente presente en cantidades traza, en los pocos aceites en los que aparece. Se ha registrado su espectro de masas (fig. 4), a partir de fracciones enriquecidas en este componente. Su ión molecular, aunque débil, aparece a m/z 152, el cual se confirma con los fragmentos a m/z 137 y 134, procedentes de la pérdida de metilo y agua respectivamente. Esto pone de manifiesto que se trata de un alcohol monoterpénico de fórmula $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$, posiblemente cíclico a la vista de los fragmentos que se observan en el espectro.

Los tres picos de mayor intensidad son muy significativos. Primero aparece un ión a m/z 43 muy intenso, lo que sugiere la presencia de un grupo isopropilo, cuya ruptura está muy favorecida para dar el pico a m/z 109 = $\text{M}^+ - 43$. El ión a m/z 91 corresponde a un fragmento típicamente aromático (C_7H_7^+), que puede proceder de una aromatización del anillo por deshidratación. Estos hechos, y la gran intensidad de los picos a m/z 91 a 95 parecen indicar una estructura de p-mentanodienol. Pero de acuerdo con las relaciones de intensidad entre los picos M^+ y $\text{M}^+ - 18$ pudiera tratarse de un alcohol monoterpénico bicíclico con un doble enlace, si tenemos en cuenta las consideraciones de la bibliografía (26) sobre compuestos de estructuras semejantes. Es difícil por tanto, con solo estos datos, precisar un tipo de estructura para este componente.

23.- Basados en algunos datos encontrados en la bibliografía (20, - 27), y en la observación y estudio de su espectro de masas (fig. 5), suponemos que este componente se trate del nonanal.

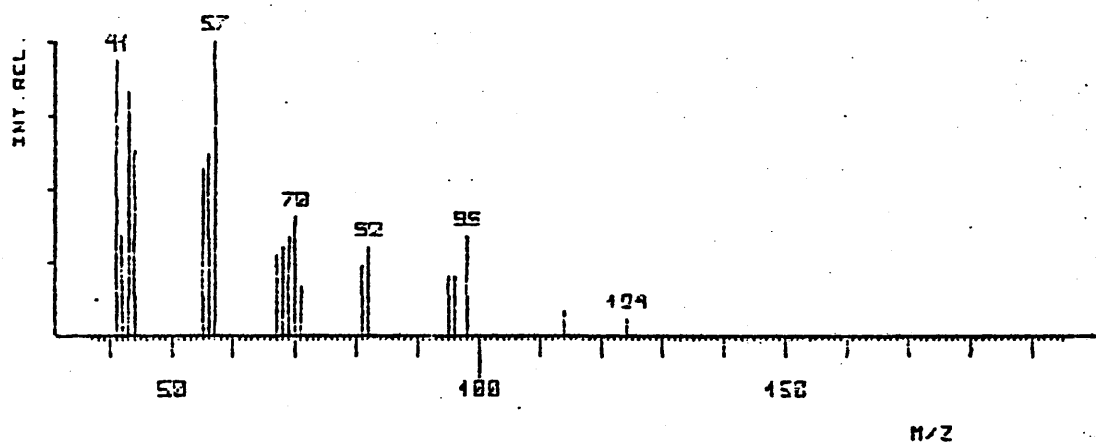
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	57.4	77	21.3	95	48.8
43	100.0	79	21.3	109	78.8
55	12.8	91	42.6	134	1.1
56	29.8	91	83.1	137	12.8
67	40.4	92	31.9	152	10.6
69	25.5	93	25.5		



COMPONENTE N. 22

(fig. 4)

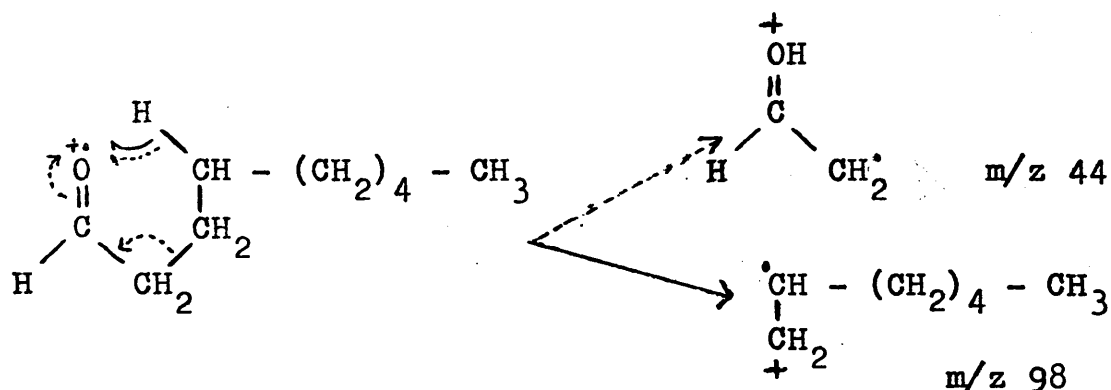
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	93.3	67	26.7	92	30.0
43	83.3	69	30.0	95	20.0
44	63.3	69	33.3	96	20.0
55	56.7	70	40.0	98	33.3
56	61.7	71	16.7	114	8.0
57	100.0	81	23.3	124	5.3



COMPONENTE N. 23

(fig. 5)

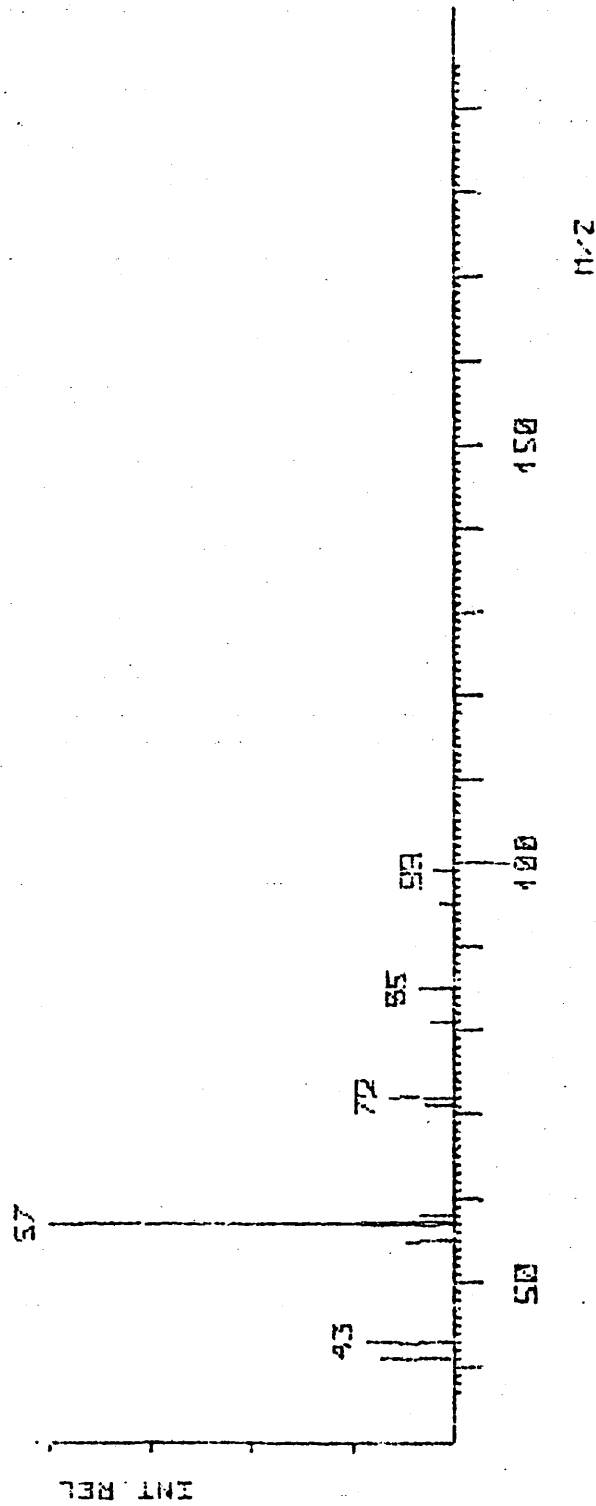
La forma general de su espectro es muy semejante a la de los alcanos, con máximos en las secuencias m/z 43, 57, 71, correspondientes a los iones $C_n H_{2n-1}$ y $C_n H_{2n-1}O$, los picos de m/z 41, 55, 69 de $C_n H_{2n-1}$, y las correspondientes a los productos pares de transposición de la serie de hidrocarburos m/z 42, 56, 70, de $C_n H_{2n}$. Ahora bien los productos de transposición mas importantes, desde el punto de vista del diagnóstico estructural son los fragmentos pares resultantes de la transposición de Mc Lafferty que resultan m/z 44 cuando la carga está sobre el oxígeno, y m/z 98 cuando la carga se encuentra sobre la mitad hidrocarbonada.



24.- No se ha podido conseguir el espectro de masas de este componente totalmente puro, pues siempre aparecen junto a él trazas de un hidrocarburo sesquiterpénico, que impiden la interpretación correcta del mismo. No obstante, parece que se trata de un alcohol o eter monoterpénico.

25.- De el espectro de masas (fig.6) de este componente no se deduce de una manera clara el valor de su peso molecular. Con la hipótesis de que se trate de un compuesto de peso molecular $128 = 99 + 29$, y por comparación de su espectro con el que se cita en (25) para el 1-octen-5 ol podemos casi asegurar que se trata de este compuesto.

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	17.7	53	8.2	95	3.2
43	21.5	71	7.0	95	3.2
55	11.4	72	13.8	99	4.4
57	100.0	91	5.7		



COMPONENTE N. 25 (fig. 6)

26.- Tuyona y p-cimeneno. Con esta retención cromatográfica aparecen dos compuestos. Se han registrado sus espectros de masas en el mismo pico. El primero se ha identificado por comparación del espectro con el de un patrón. El otro espectro parece coincidir con el del p-cimeneno.

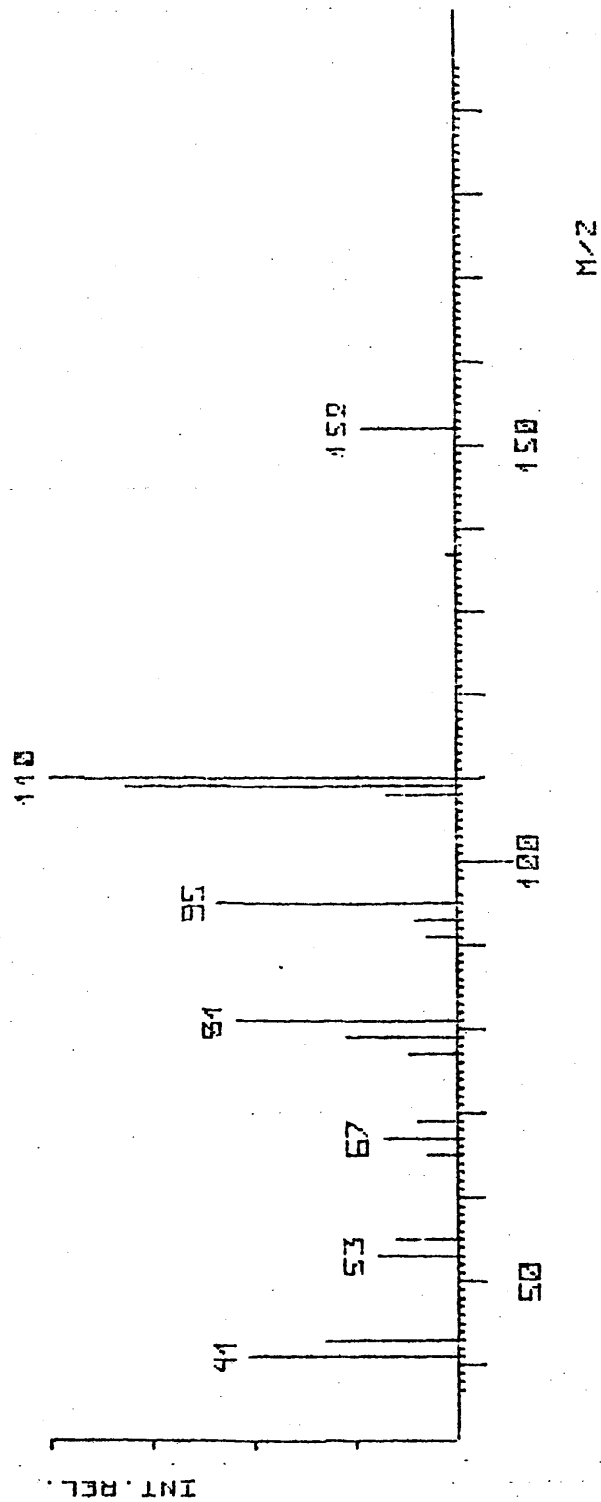
27 y 29.- Oxidos de linalilo. Los espectros de masas de estos componentes coinciden con los de los óxidos de linalilo trans y cis - de cinco miembros, que poseemos como patrones.

28.- α -Copaeno. Se eluye en fracciones poco polares. A partir de ellas se ha registrado su espectro de masas. Se trata de un hidrocarburo sesquiterpénico de peso molecular 204. Los picos mas importantes parecen coincidir con los que aparecen en (28, 29) para el α -copaeno. Este componente ha sido aislado en un estudio paralelo realizado en nuestro laboratorio y se ha registrado su espectro de ^1H -RMN, que está de acuerdo con los datos citados en (29).

30.- Está presente en el aceite esencial de algunas especies de Teucrium a concentraciones apreciables que no llegan a alcanzar - el 1 %. Tan sólo se dispone de su espectro de masas (fig.7). Su - ión molecular $M^+ = 152$ indica que se trata de un compuesto mono-terpénico de fórmula empírica $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$, a la que corresponden - tres insaturaciones.

La ausencia del pico $M^+ - 18$ ó $M^+ - 17$, y la presencia de picos pares importantes, parece indicar una función oxigenada de tipo carbonilo. La fragmentación del espectro apunta con toda probabilidad hacia una estructura cíclica. Como los picos en los espectros de aldehídos y cetonas bicíclicos corresponden a los iones - m/z 81 y 83, en principio, puede desecharse este tipo de estructuras.

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	51.0	69	9.6	95	58.7
43	32.7	77	11.5	109	17.3
53	19.2	79	26.9	109	80.8
55	15.4	81	53.8	110	100.0
65	7.7	91	7.7	152	23.1
67	18.3	93	10.6		

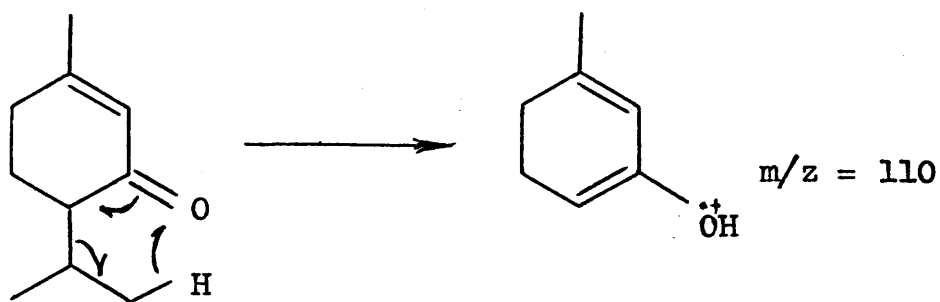


(fig. 7)

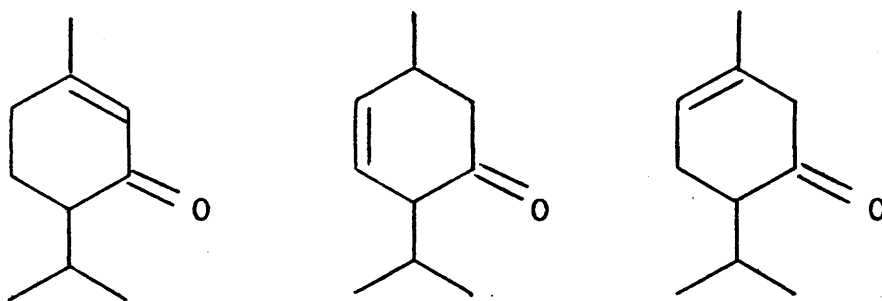
COMPONENTE N. 30

Si tenemos en cuenta una estructura de p-mentenona, donde no cabe que el grupo cetónico esté en posición 4 con respecto a los sustituyentes alquílicos, no es factible la eliminación de cetena.

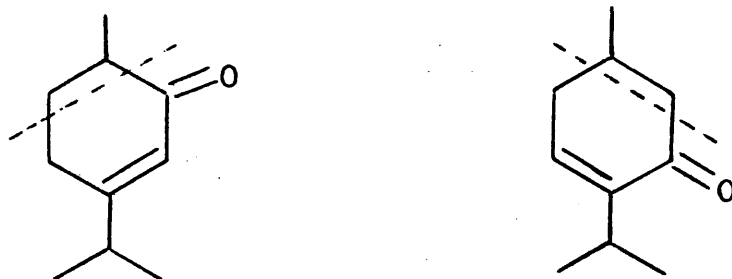
Por otro lado, en una transposición de Mc Lafferty entre el grupo carbonilo y el sustituyente isopropilo en posición contigua, se obtendría un fragmento $M^+ - 42 = 110$, que correspondería a la pérdida de propileno, según



Entre las estructuras posibles que darían este tipo de transposición tendríamos las siguientes:



Por otro lado, otras dos estructuras darían lugar a una fragmentación retro-Diels-Alder que coincidentemente conducirían a un fragmento de m/z 110:



Se han encontrado datos bibliográficos sobre los espectros de masas de algunos de estos compuestos (30), que no coinciden totalmente con los del nuestro. Sobre otros no se dispone de información. Por este motivo no hemos podido establecer la estructura correcta.

31.- β -Bourboneno y alcanfor. Con esta retención cromatográfica - se localizan dos compuestos, lo que ha impedido determinar la concentración con la que entran, cada uno de ellos, a formar parte en los aceites de la diferentes especies, aunque en algunos casos se - ha comprobado la presencia de uno de ellos solamente.

Como estos compuestos aparecen en fracciones de distinta - polaridad, se han podido registrar sus espectros de masas. El espectro del compuesto menos polar, pone de manifiesto que se trata de - un hidrocarburo sesquiterpénico de peso molecular 204. Los picos de mayor intensidad aparecen a m/z 81, 80 y 123.

Existen datos de masas (31) de un hidrocarburo sesquiterpénico, cuyos picos de mayor intensidad coinciden con los de este compuesto. Al ser tan poco corrientes estos picos en hidrocarburos sesquiterpénicos, creemos que se trata de la misma estructura, y que - corresponde a la del β -bourboneno. Además se ha registrado el espectro de ^1H -RMN. Este no se ha podido obtener del compuesto totalmente puro, sin embargo, sus bandas mas características parecen indicar que se trata del mismo compuesto.

El otro componente que sale en GC junto al β -bourboneno, es el alcanfor, identificado por comparación de su espectro de masas con su patrón. En los aceites de T. pseudochamaepitys y T. homotricum - se ha comprobado la presencia de alcanfor como componente mayoritario.

En el resto de las especies no se ha calculado la concentración de - cada uno de ellos separadamente, puesto que están presentes en cantidades minoritarias.

32.- Se ha detectado su presencia solo en algunos aceites, siempre - en cantidades minoritarias. En el espectro de masas (fig. 8) de este componente no se aprecia la señal correspondiente a su ión molecular. Sin embargo, de la comparación de los picos de mayor intensidad con los que aparecen en (25), parece deducirse que se trata del óxido - de α -pineno, con gran probabilidad.

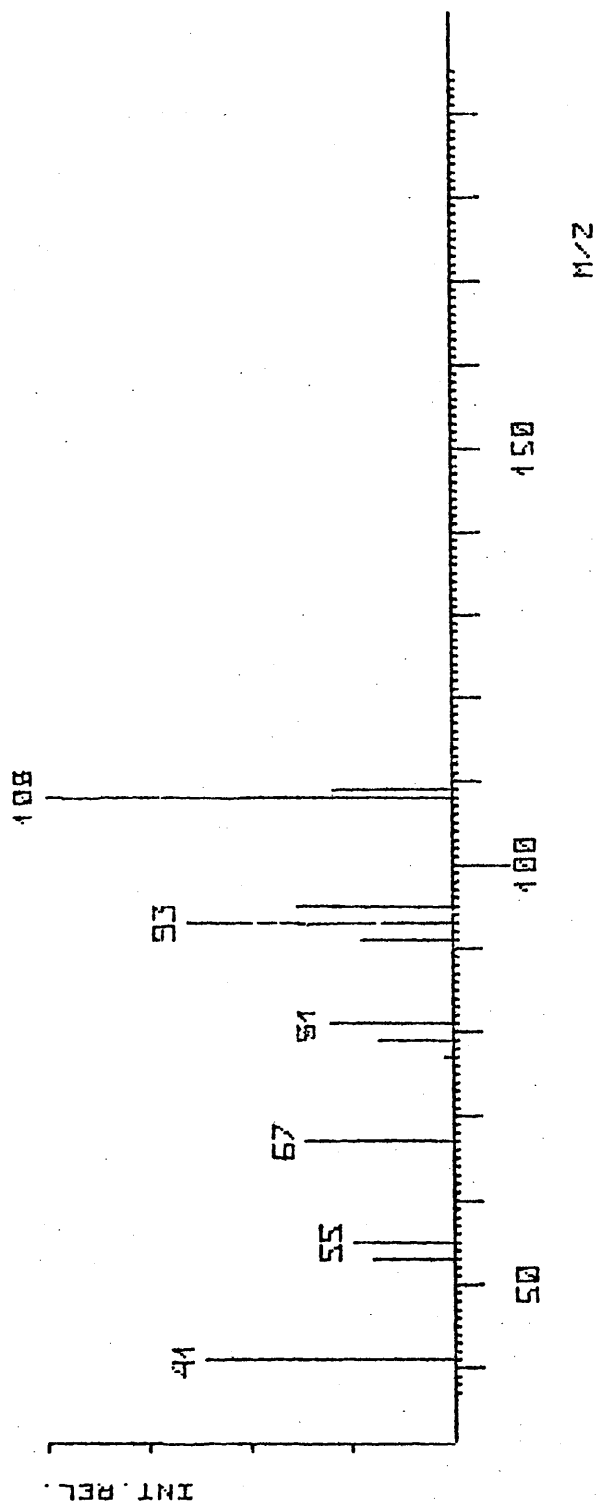
33.- Linalol. Se eluye por cromatografía líquido-sólido con n-hexano-éter, 85-15. Es un componente característico de todos los aceites - esenciales de Teucrium, pues está presente en todas las especies, - aunque en cantidades mayoritarias solamente en el 7T1/8 y 7T1/9. Su espectro de masas coincide con el de nuestro linalol patrón y se - confirma su identidad por GC.

33'. - Isopinocanfona. Presente sólo en cantidades traza. Se eluye en columna con n-hexano-éter, 88-12. Su espectro de masas coincide con el que se cita en (30), para este compuesto.

34.- Pinocarvona. Este compuesto está presente en todos los aceites estudiados, pero siempre en cantidades minoritarias. Se ha llegado a identificar por comparación de su espectro de masas con el citado en (30).

35.- Acetato de isobornilo. Se ha registrado su espectro de masas a partir de alguna fracción en la que se hallaba a mayor concentración, pues en los aceites esta no supera el 1 %. El espectro coincide con el de su patrón, así como su retención cromatográfica.

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	60.6	77	2.1	95	39.3
53	2.1	79	18.1	108	100.0
53	19.1	81	29.8	109	28.7
55	23.9	91	22.3		
67	35.6	93	64.9		

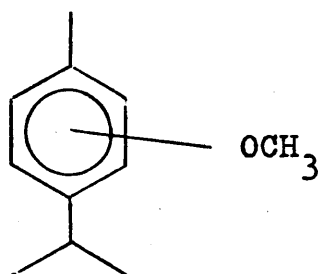


(fig. 8)

COMPONENTE N. 32

36.- Tan sólo se ha observado la presencia de este componente en los aceites esenciales 9Tl/8 y 9Tl/9 a una concentración del 0,1 %. Es posible que esté presente en otras especies en cantidades traza. Se ha podido registrar su espectro de masas a partir de una fracción cromatográfica enriquecida.

A la vista del espectro (fig. 9) se pueden sacar algunas consecuencias. La fórmula molecular debe ser $C_{11}H_{16}O$, que debe corresponder a cuatro insaturaciones (un ciclo y tres dobles enlaces). Los picos a m/z 149 ($M^+ - CH_3$), 134 ($M^+ - CH_2O$), 133 ($M^+ - OCH_3$) y 119 ($M^+ - CH_3 - CH_2O$), podrían indicar que se trata de un éter metílico del p-cimeno.

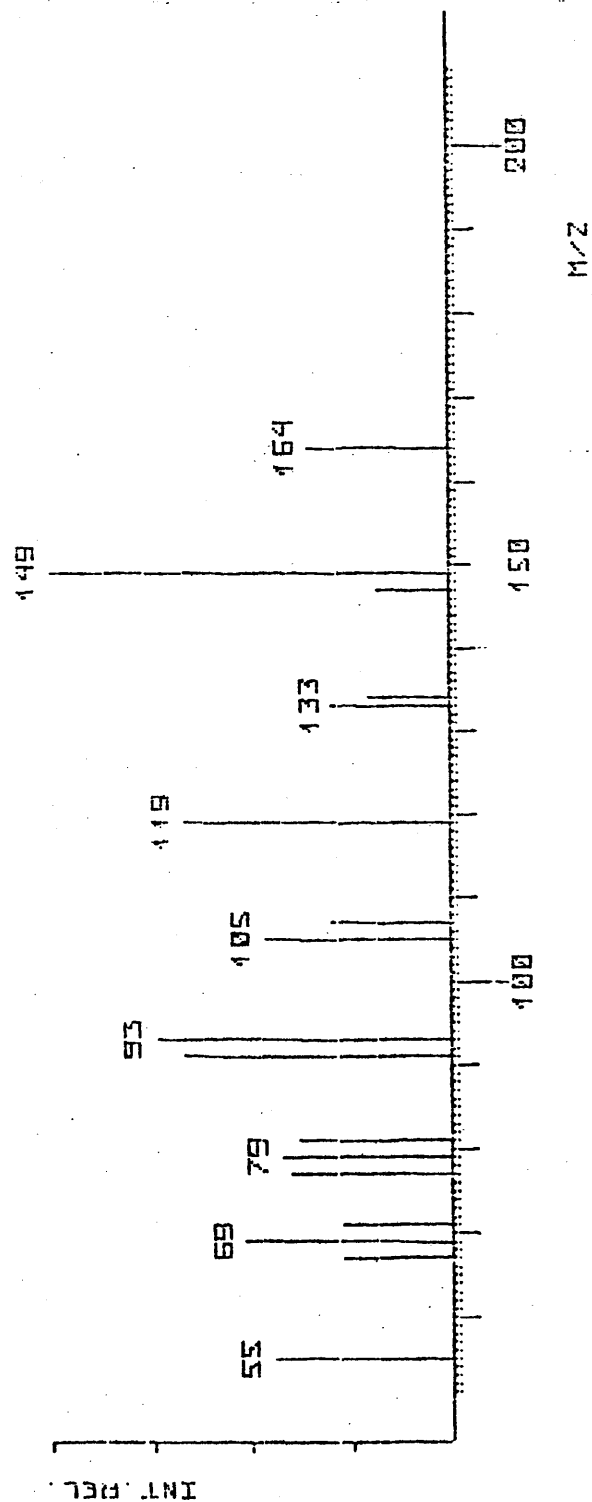


No obstante la parte baja del espectro sugiere que el producto puede estar impurificado.

37.- Cariofileno. Se eluye por cromatografía líquido-sólido con n-hexano-eter, 88-12. En los aceites del género Teucrium, está siempre presente, a concentraciones algunas veces mayoritarias. Su identificación se llevó a cabo mediante su espectro de masas, confirmada por la comparación de su tiempo de retención con el de su patrón.

38.- Terpinen-4-ol. Se eluye por cromatografía en columna con n-hexano-eter, 80-20. Presenta un índice de retención muy similar al del cariofileno, por este motivo no se ha podido determinar aisladamente la concentración de ambos componentes. No obstante al ser compuestos de naturaleza muy diferente, se han separado completamente por -

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
55	44.4	81	37.8	133	28.9
67	26.7	91	66.7	134	20.0
69	51.1	93	73.3	147	17.8
71	25.7	105	46.7	149	100.0
77	40.0	107	28.9	164	35.6
79	42.2	119	65.7		



COMPONENTE N. 36

(fig. 9)

cromatografía líquido-sólido. Se ha registrado su espectro de masas, que coincide con el del correspondiente patrón. Asimismo, se ha confirmado su identidad por GC.

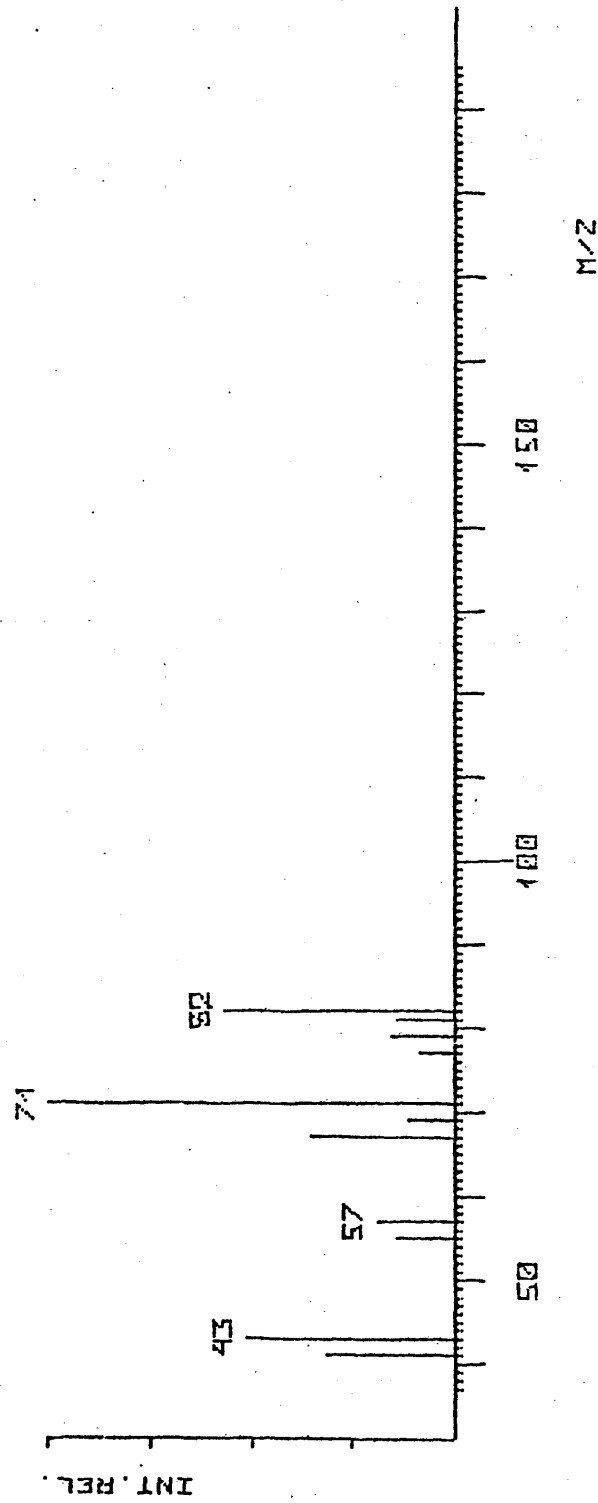
38'. - Acetato de 4-terpenilo. La retención cromatográfica de este compuesto es muy similar a la del componente anterior. Por este motivo, su presencia en los aceites no es fácilmente determinable. No obstante, se ha comprobado su existencia en algunas especies. Su espectro de masas, obtenido de una fracción cromatográfica coincide con el que figura en (32).

39.- Este componente está presente en el aceite de la especie 5Tl/7 a una concentración de 3,9 %, en el resto de ellas, cuando existe, - aparece en cantidades minoritarias.

Su espectro de masas (fig. 10) no se ha podido registrar del producto totalmente puro. Se aprecian impurezas debidas a un hidrocarburo de masa molecular 204. No es observable el ión molecular, ni ninguna señal indicativa del mismo, ya que el pico visible de mayor masa es el m/z 82. Por estos motivos es difícil llegar a formular una estructura. Únicamente apuntar que puede tratarse de un alcohol monoterpénico del tipo del mentol, quizás impurificado por el terpinen-4-ol, ya que ambos presentan con pico base el ión m/z 71, y en el espectro del primero no se aprecia la señal correspondiente a su ión molecular. Tanto el mentol normal como el neomentol presentan un pico a m/z 82 con una intensidad notable (30,5 y 41,7 %, respectivamente), según como se cita en (26).

40.- Mirtenal. Se ha eluido por cromatografía en columna líquido-sólido, con n-hexano-eter, 88-12. Este compuesto está presente en casi todos los aceites estudiados. Su espectro de masas está de acuerdo

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	31.1	67	35.1	79	14.9
43	51.4	69	10.8	81	13.5
55	13.5	71	100.0	82	56.8
57	18.9	77	8.1		



COMPONENTE N. 39 (fig. 10)

con los datos que figuran en (30) para este compuesto.

41.- Aromadendreno. Algunas especies lo contienen, aunque en cantidades minoritarias. Se ha registrado su espectro de masas que coincide con el del compuesto patrón, así como su retención cromatográfica.

42.- t-Pinocarveol. Está presente en todas las especies, siendo mayoritario en los T. gnaphalodes. Se ha logrado aislar por fraccionamiento en columna cromatográfica líquido-sólido con n-hexano-eter, 85-15. Su espectro de masas (fig. 11) parece coincidir con el publicado en (33) y (34). Se ha podido confirmar su estructura por medio de su espectro de ^1H -RMN. Las bandas mas características se describen a continuación:

a) Dos singletes a $\delta = 4,95$ y $\delta = 4,75$ ppm, correspondientes a los dos protones del grupo $=\text{CH}_2$, que además presentan estructura fina - por acoplamientos alílicos.

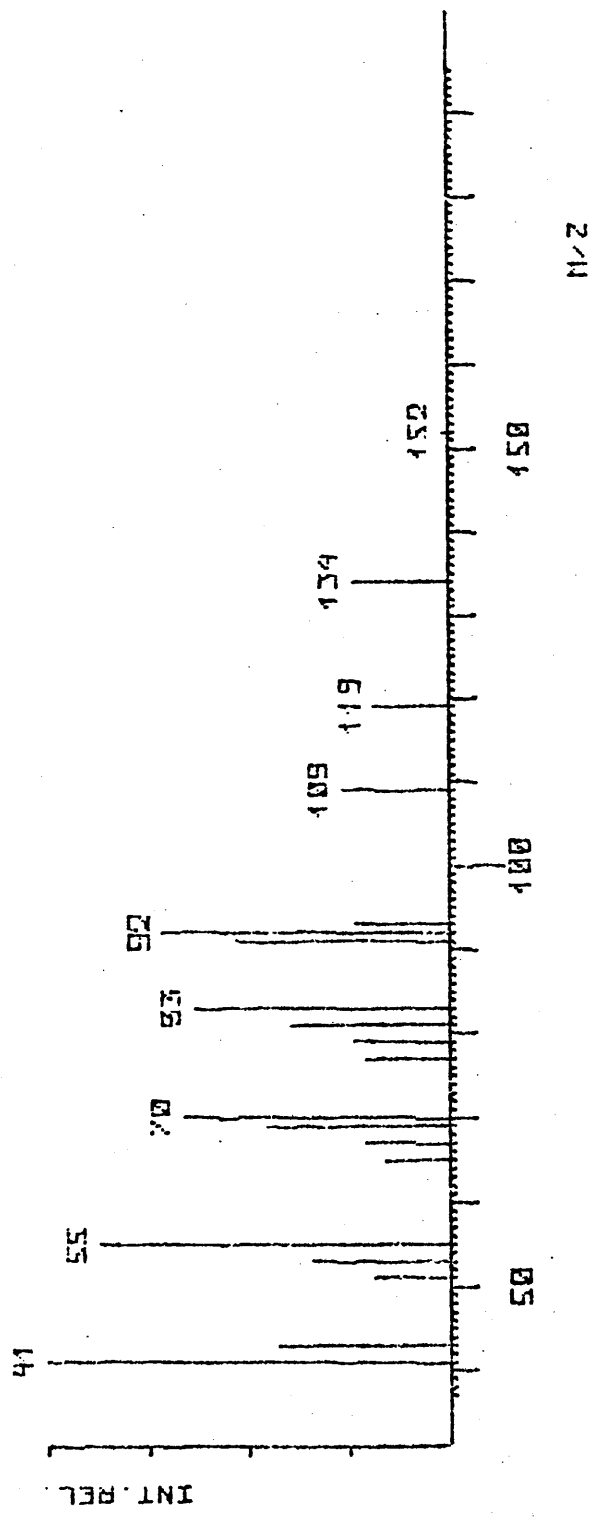
b) Doblete a $\delta = 4,40$ ppm ($J = 8$ Hz), perteneciente al protón geminal al grupo OH, por acoplamiento con un protón del carbono vecino. Se aprecia asimismo un segundo desdoblamiento debido al segundo protón, con una constante de acoplamiento muy pequeña.

c) A $\delta = 0,85$ y $\delta = 1,25$ ppm presenta el espectro dos singletes pertenecientes a metilos en carbono cuaternario.

43.- Ha sido comprobado su presencia en pocas especies, donde su concentración nunca supera el 0,6 %. Esto junto a que en cromatografía de gases aparece en una zona muy compleja, donde hay diversos compuestos con retenciones muy similares, ha impedido su identificación, pues ni siquiera se ha podido registrar su espectro de masas.

44.- Está presente en algunas especies, a una concentración que en -

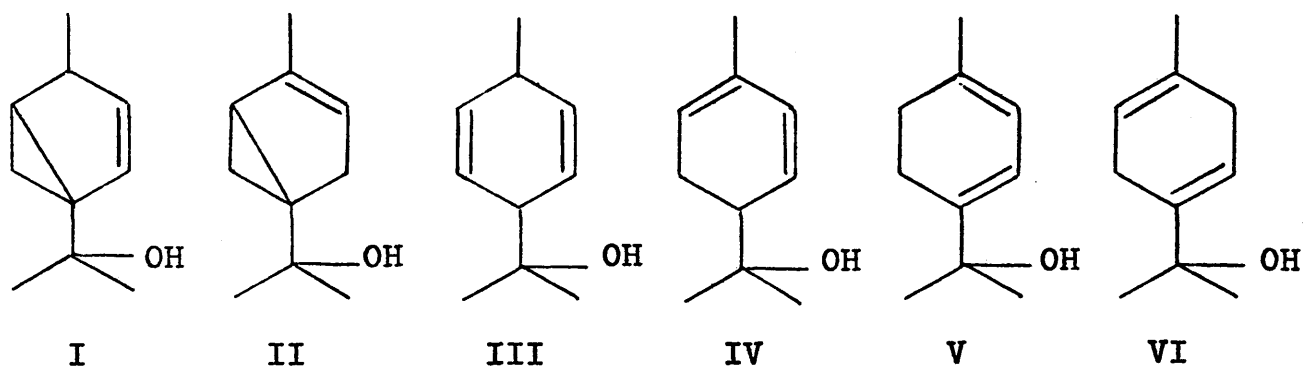
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	100.0	69	44.7	92	71.1
43	42.1	70	65.0	93	23.7
51	18.4	77	21.1	109	26.3
53	34.2	79	23.7	119	18.4
55	36.8	81	39.5	134	23.7
65	15.8	83	63.2	152	1.1
67	21.1	91	52.6		



COMPONENTE N. 42 (fig. 11)

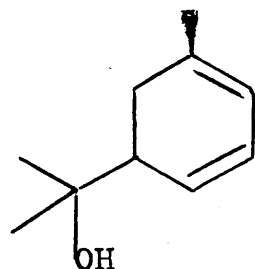
el mejor de los casos alcanza el 0,5 %. No obstante se ha podido registrar su espectro de masas (fig. 12) el cual pone de manifiesto que se trata de un compuesto monoterpénico de peso molecular - 152. Las primeras fragmentaciones observables son la pérdida de un radical metilo ($M^+ - 15$) y la de agua ($M^+ - 18$). Esto nos indica - que posiblemente se trate de un alcohol monoterpénico de fórmula - empírica $C_{10}H_{16}O$ que poseerá por tanto, tres insaturaciones.

El pico base del espectro m/z 59 es característico del grupo $\begin{matrix} H_3C \\ H_3C \end{matrix} C-OH$, el ión a m/z 91 (tropilio) es propio de estructuras cíclicas. Que satisfagan estas condiciones se pueden formular las estructuras siguientes:

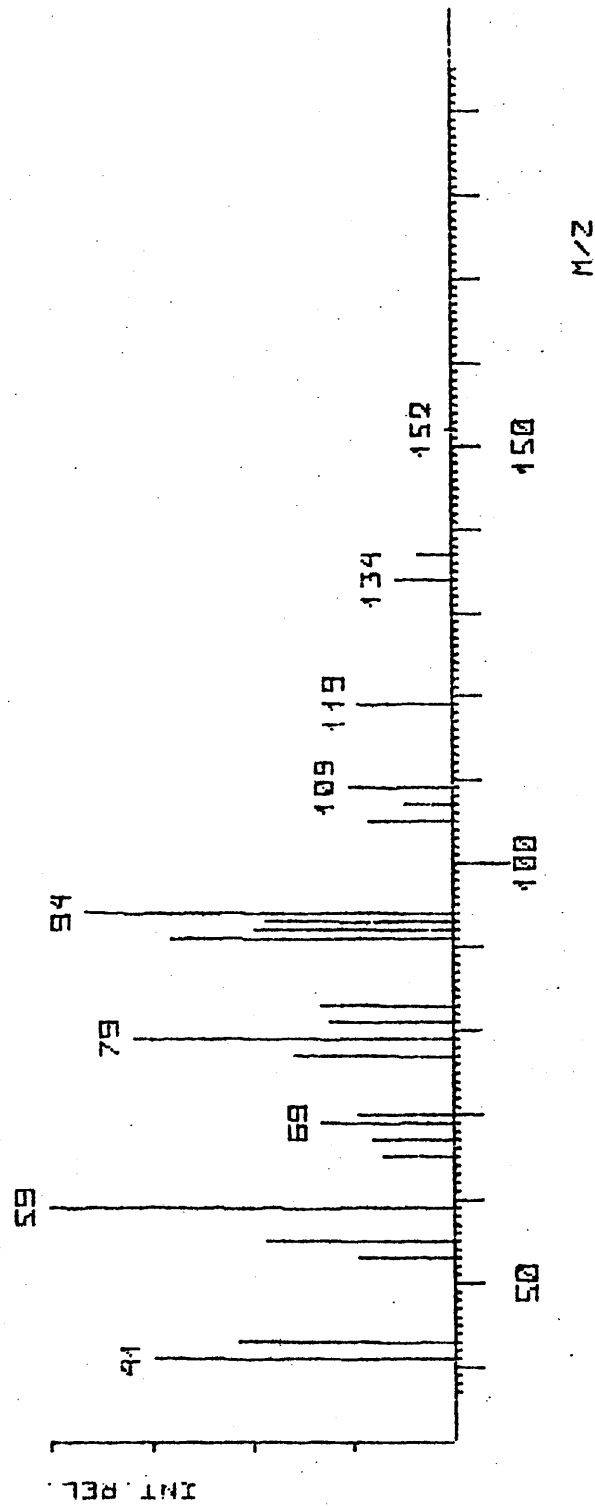


Las V y VI, son menos probables, pues no parece estar favorecida la ruptura para producir el ión intenso a m/z 59. Las estructuras I y II no son frecuentes en terpenos, lo cual nos lleva a pensar - en las III y IV.

Por otra parte los picos mas intensos del espectro m/z 59, 94, 79 coinciden con los de un alcohol monoterpénico sintético que se cita en (35) cuya estructura es



M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	74.4	70	23.3	94	90.7
43	53.5	77	39.5	105	20.9
53	23.3	79	79.1	107	11.6
55	46.5	81	30.2	109	25.6
59	100.0	83	32.6	119	23.3
65	17.4	91	69.8	134	14.0
67	19.8	92	48.8	137	8.1
69	32.6	93	46.5	152	1.2



COMPONENTE N 44 (fig. 12)

la similitud entre esta estructura y las propuestas III y IV, indican que ciertamente debe tratarse de una de ellas.

Con una retención cromatográfica algo mayor aparece otro compuesto, cuyo espectro de masas es muy similar al citado. Por las mismas razones cabe pensar que se trate de uno de los dos isómeros III o IV. Dada su escasa concentración en los aceites, y la dificultad de localizarlo, no se le ha asignado ningún número de orden.

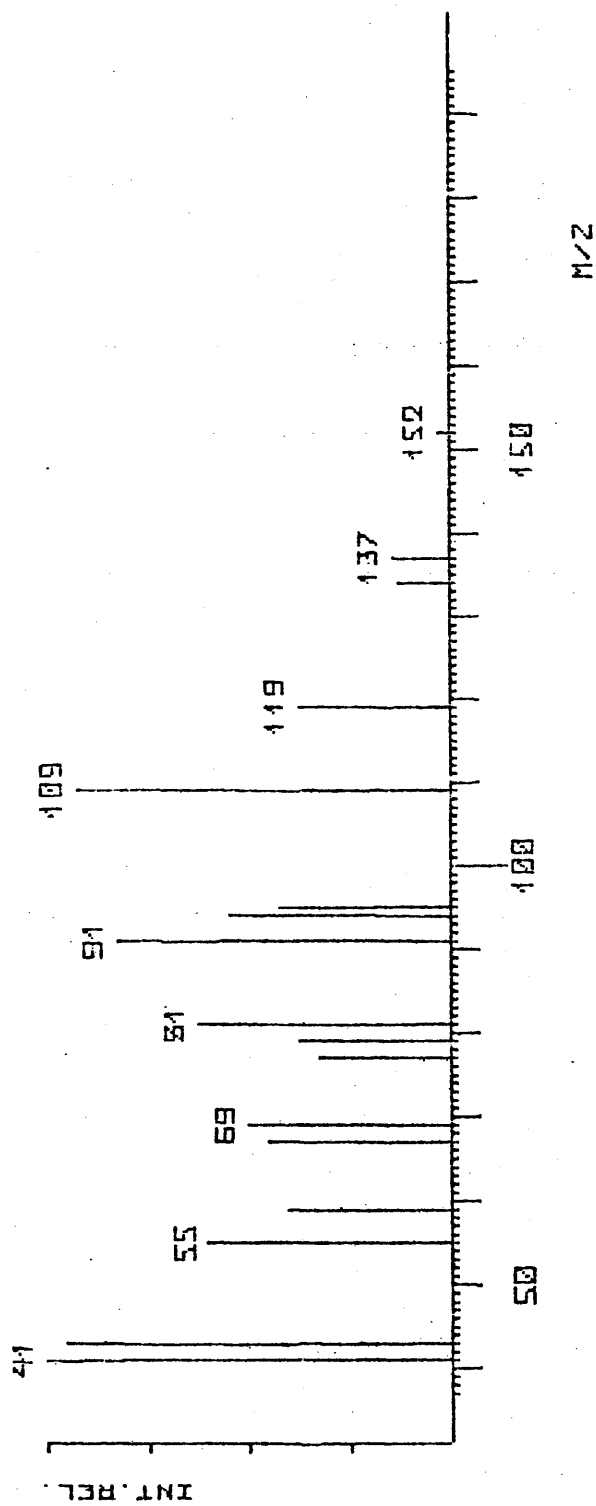
45.- α -Humuleno. Está presente en todas las especies de Teucrium. Se ha eluido junto a otros hidrocarburos sesquiterpénicos en fracciones poco polares. Se ha identificado por comparación de su espectro de masas con el de un patrón, lo que se ha confirmado asimismo por GC.

46.- Posee una retención cromatográfica muy similar a la del α -humuleno. Su concentración alcanza su valor máximo en los T. gnaphalodes, donde en algún caso supera el 4 %. En el resto de la especie, cuando está presente, su concentración es muy baja.

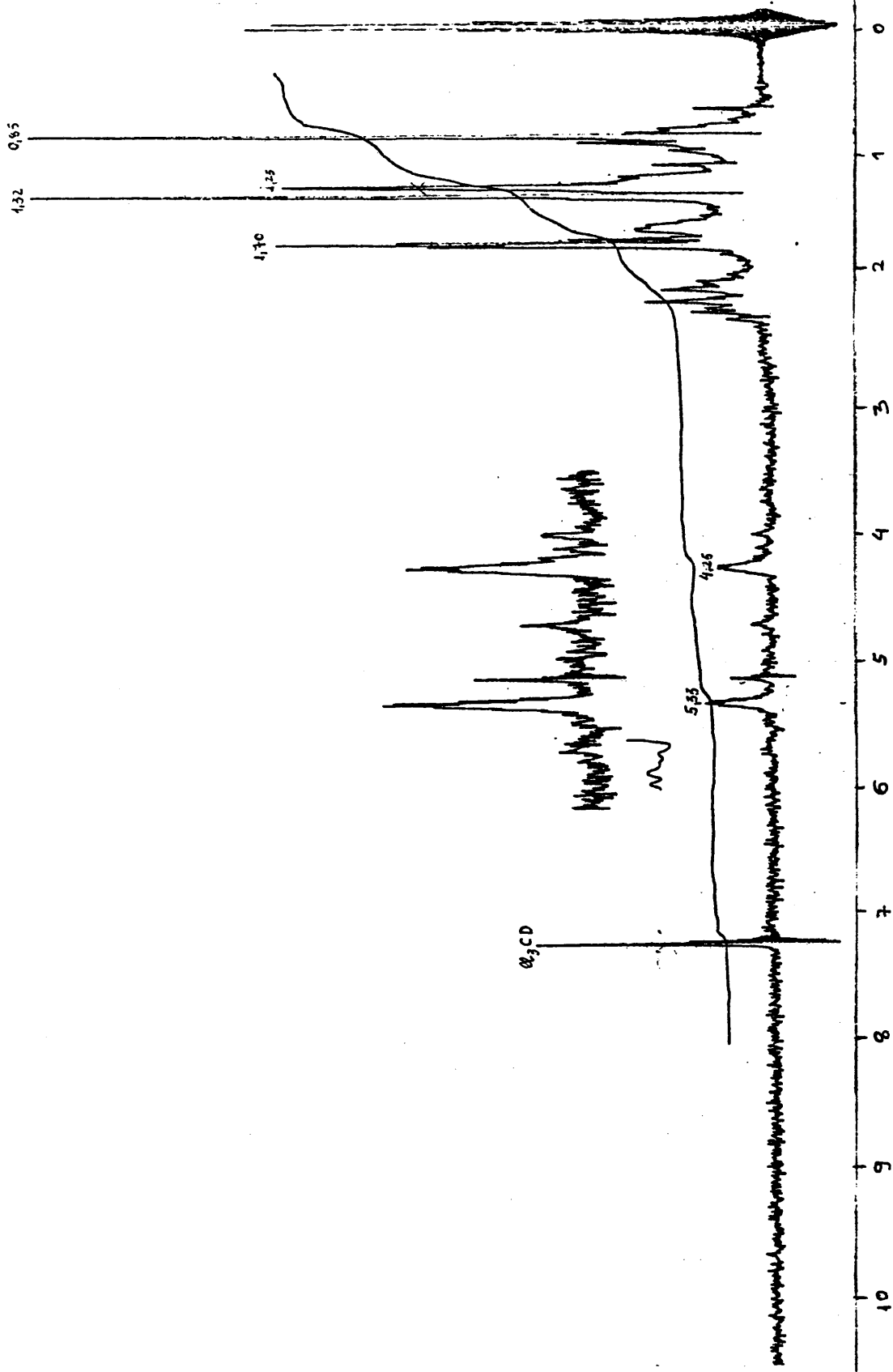
Se ha aislado en una fracción obtenida por cromatografía de columna líquido-sólido, al eluirse con n-hexano-eter, 75-25. Su espectro de masas (fig. 13) nos indica un ión molecular M^+ 152, con los principales picos m/z 109, 91, 41 y 43. Existen, además, los picos correspondientes a la pérdida de metilo ($M^+ - 15$) y agua ($M^+ - 18$), que ponen de manifiesto su naturaleza alcohólica, lo que se confirma por la aparición de la banda a 3.480 cm^{-1} en su espectro infrarrojo.

Los picos mas significativos de su espectro de masas pueden

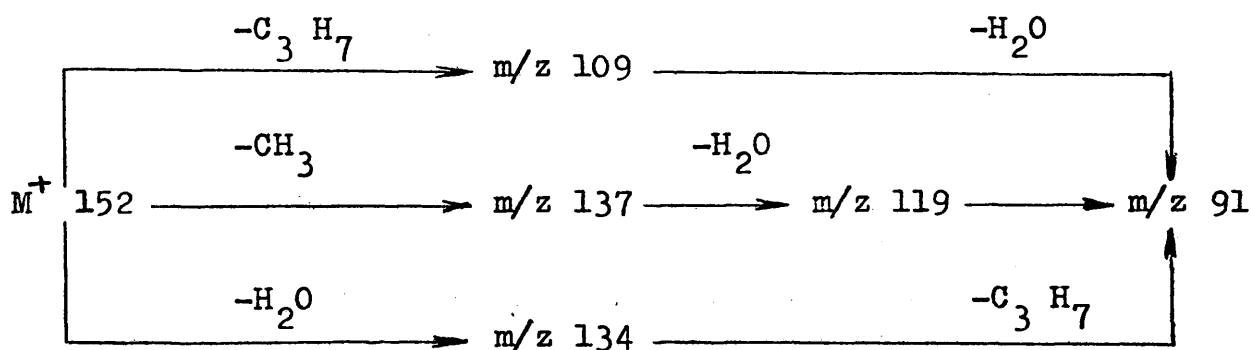
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	100.0	77	32.5	109	92.5
43	95.0	79	37.5	119	37.5
55	60.0	81	62.5	134	12.5
59	40.0	91	32.5	137	13.8
67	45.0	94	55.0	152	2.5
69	50.0	95	42.5		



COMPONENTE N. 46 (fig. 13)



explicarse como se indica en el siguiente esquema:



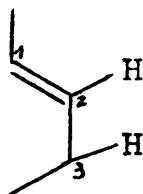
Por otra parte, su espectro de ^1H -RMN (fig. 14) confirma - su función de alcohol por la desaparición de la banda de hidroxilo a $\delta = 1,6$ ppm. al agitar con agua deuterada. Las bandas mas características de dicho espectro son las siguientes:

a) Un multiplete centrado a $\delta = 5,33$ ppm. y constante de acoplamiento muy pequeña, debido a un protón olefínico.

b) Una banda ancha a $\delta = 4,25$ ppm. perteneciente a un protón enlazado a un carbono terciario, portador del grupo OH: $\text{>C<}\begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$. Para explicar que este protón salga a campo relativamente bajo, debe - considerarse que está en carbono contiguo a doble enlace.

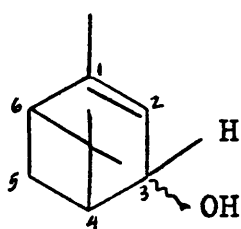
c) A $\delta = 0,85$ y $\delta = 1,32$ ppm., el espectro de resonancia presenta dos singletes que integran por tres protones cada uno. Deben ser por tanto de metilos unidos a carbono cuaternario, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3$ que deben estar situados en distinto entorno.

d) Un grupo metilo vinflico a $\delta = 1,70$ ppm., cuya señal de resonancia se escinde en un triplete ($J = 1,5$ Hz) lo cual se explica si - existe un solo protón en (3), en cuyo caso, este desdoblamiento - procede de un acoplamiento alílico con el H en (2) y otro homoalílico con el H en (3).

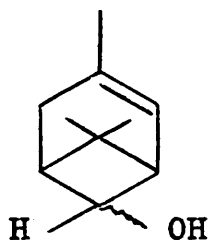


e) Multiplete a $\delta = 2,2$ ppm. de protones $-\text{CH}$ ó $-\text{CH}_2-$ contiguos a doble enlace.

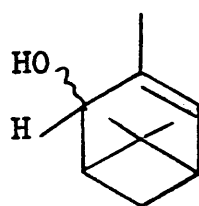
Para un alcohol $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$ con tres insaturaciones, una de las cuales es un doble enlace debe corresponder una estructura bicíclica que además teniendo en cuenta las características antes mencionadas debe ser del tipo:



I



II



III

La estructura II no cumple la condición (b), ya que, el protón del carbono (4) no suele aparecer a campos tan bajos. Las estructuras I y III son coherentes con la información obtenida de sus espectros de MS, IR y ^1H -RMN. Sin embargo, creemos mas probable la primera que posee el esqueleto base del pinano, que es mas frecuente en terpenos.

Se han encontrado diferentes datos (26, 36) sobre el espectro de masas del compuesto I denominado verbenol, que en ningún caso coinciden con los de nuestro espectro, en lo que se refiere a la intensidad de los picos. Podría pensarse que se trata de un isómero diferente a los que se citan en la bibliografía, o bien que ha influido sobre el espectro algún factor de carácter experimental.

En el espectro de ^1H -RMN aparece un singlete a $\delta = 1,25$ ppm que no pertenece a nuestro compuesto, así como un multiplete centrado a $\delta = 0,85$ ppm propio de hidrocarburos de cadena lineal, los -

cuales se ha comprobado que proceden de impurezas de los disolventes apolares que son menos volátiles que nuestro, pues se han podido separar dichas impurezas.

47.- γ-Muuroleno. Se eluye en columna cromatográfica líquido-sólido con n-hexano. Está presente en todos los aceites esenciales estudiados de Teucrium, generalmente a concentraciones inferiores al 5 %. Por su espectro de masas se ha identificado como γ-muuroleno, por comparación con los publicados en (28) y (37).

48 y 49.- Por cromatografía de gases se han localizado estos dos compuestos en los aceites de algunas especies, que debido a su pequeña concentración no se han podido identificar.

50.- α-Terpineol, Borneol, Acetato de α-Terpenilo. En aceites de especies diferentes se han localizado estos tres componentes, con una retención cromatográfica muy similar. Su identificación se realizó por medio de sus espectros de masas, por comparación de sus correspondientes patrones. El registro del espectro de cada uno de ellos, pudo realizarse en fracciones distintas separadas por cromatografía líquido-sólido. No siempre están presentes los tres compuestos en la misma especie. La mayoría de ellas presentan solo el α-terpineol y borneol.

51.- Isoborneol. Es componente mayoritario en la especie 9T1/9. Su espectro de masas coincide con el de su patrón. Esta asignación se confirma por GC.

52.- Germacreno D. Es componente fundamental en el T. capitatum de Vaciamadrid. Se ha recogido esta especie en diferentes épocas con el objeto de estudiar la variabilidad de la composición de su aceite esencial. La concentración de este componente, parece aumentar

con el grado de madurez de la planta.

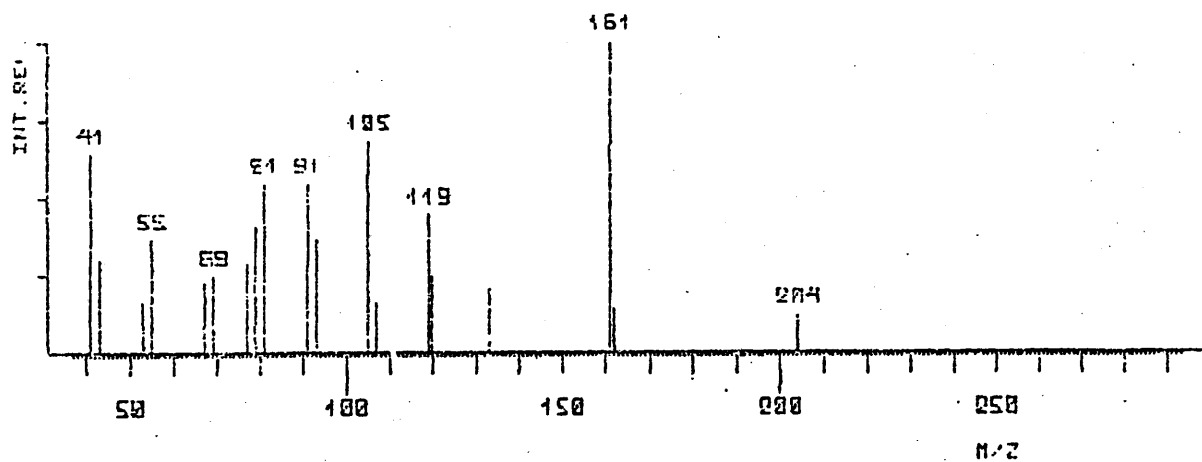
A partir del aceite total se registró su espectro de masas (fig. 15) el cual ponía de manifiesto que se trataba de un hidrocarburo sesquiterpénico. En la bibliografía se encontraron algunos datos del espectro de masas del Germacreno D (14), coincidentes con los picos mas intensos de nuestro espectro. No obstante, para confirmar su estructura, al ser el componente fundamental, se trató de aislar tanto por medio de fraccionamiento en columna cromatográfica líquido-sólido, como por GC preparativa. En ambos casos se produjeron isomerizaciones.

En la fracción de hidrocarburos sesquiterpénicos, se observó un cambio en la intensidad del pico cromatográfico correspondiente a este compuesto, por transformación de este en otro con mayor retención. El producto formado se identificó por su espectro de masas como γ -cadineno, y se confirmó con su espectro de ^1H -RMN, - que muestra las siguientes bandas:

- a) Un singlete a $\delta = 5,5$ ppm de un protón olefínico.
- b) Dos singletes a $\delta = 4,5$ y $\delta = 4,6$ ppm de dos protones en un grupo $=\text{CH}_2$.
- c) Banda ancha a $\delta = 1,6$ ppm, que integra por tres protones, propio del grupo >CH_3 .
- d) Dos dobletes centrados a $\delta = 0,68$ y $\delta = 0,88$ ppm ($J = 6$ Hz) de metilos en grupo isopropilo.

En la bibliografía se cita al Germacreno D como compuesto que sufre fáciles isomerizaciones a α -muuroleno, γ -cadineno, etc., tanto por la acción de la luz y el calor o sobre la gel de sílice, lo cual nos sugiere que realmente se trate de este compuesto.

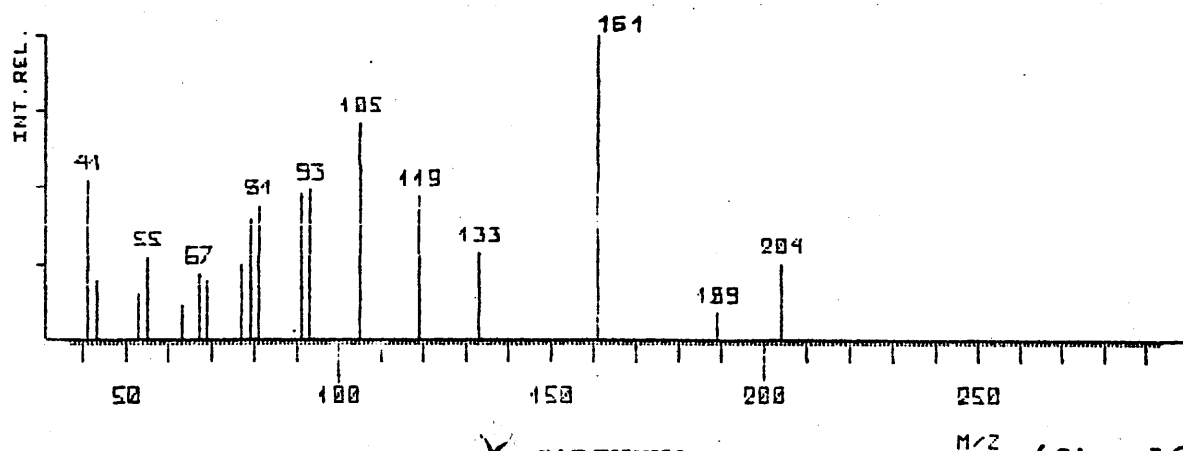
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	64.0	79	40.0	120	24.0
43	30.0	81	54.0	133	20.0
53	16.0	91	54.0	161	100.0
55	36.0	93	26.0	162	14.0
67	22.0	105	68.0	204	12.0
69	24.0	107	16.0		
77	28.0	119	44.0		



GERMACRENO D

(Fig. 15)

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	52.2	69	19.6	105	70.7
43	19.6	77	25.0	119	45.7
53	15.2	79	39.1	133	28.3
55	27.2	81	43.5	161	100.0
63	10.9	91	47.8	189	8.7
67	21.7	93	48.9	204	25.0



γ-CADINENO

(fig. 16)

52'. - Dihidroagarofurano. Está presente solamente en el aceite de una de las especies estudiadas. Se ha identificado por su espectro de masas que parece coincidir con el que se cita para dicho compuesto en (39).

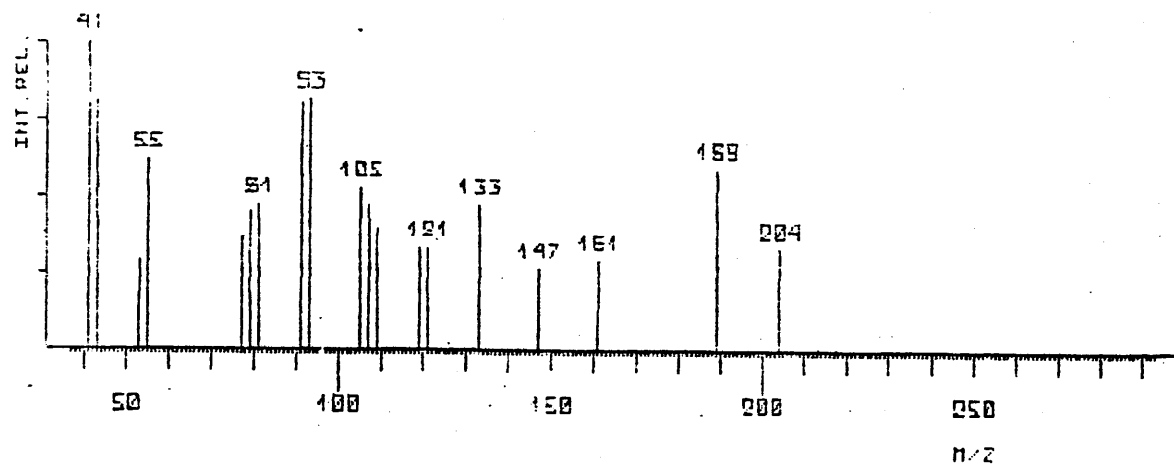
53.- A pequeñas concentraciones está presente en algunas especies. Solamente se ha obtenido el espectro de masas de este componente - (fig. 17). Su ión molecular M^+ 204 y su retención cromatográfica, indican que es un hidrocarburo sesquiterpénico. Su pico a m/z 189, intenso, es propio de las estructuras de selinenos aunque, suele - ser aún mas intenso en éstos. Sin embargo, los picos intensos a - m/z 93, 91, 105, podrían proceder de otro hidrocarburo que posea - su misma retención cromatográfica.

54.- α -Muuroleno y β -Bisaboleno. Con esta misma retención cromatográfica se han identificado estos dos hidrocarburos. El último de ellos solo aparece en el T. chamaedrys. Su identificación se ha llevado a cabo por comparación de los espectros de masas con los representados en (28) y (38), respectivamente.

55.- Carvona. Se eluye en cromatografía de columna líquido-sólido con n-hexano-eter, 88-12. Se ha identificado por comparación de su espectro de masas con los de un patrón, y por su tiempo de retención cromatográfica.

56.- δ -Cadineno. Se eluye con n-hexano por cromatografía en columna líquido-sólido. Se ha identificado por su espectro de masas (fig. 18) que coincide con el publicado en (40). En este trabajo se asigna al compuesto la estructura I. En (41) y (42) aparecen informaciones diferentes sobre el espectro del δ -Cadineno, al que atribuyen la estructura II.

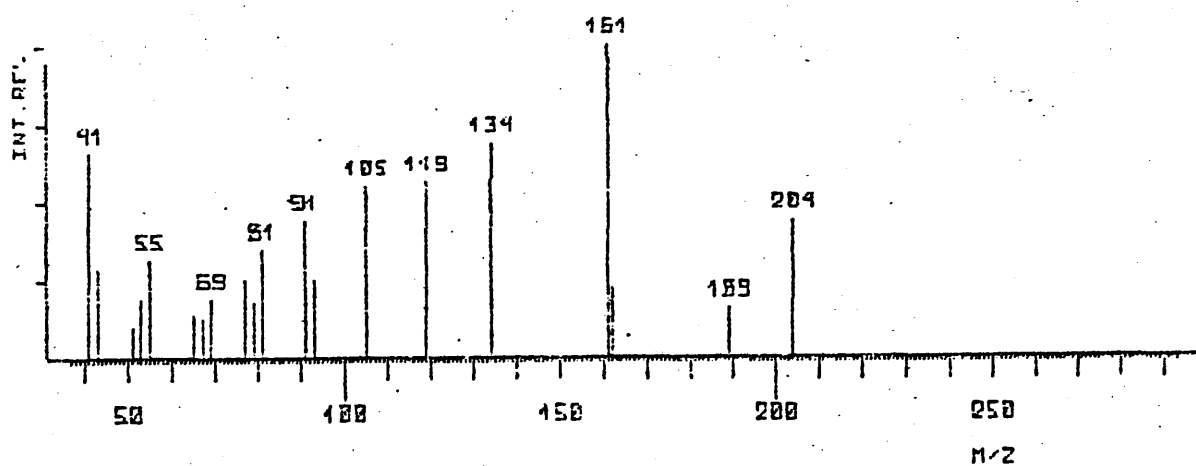
M/2	INT	M/2	INT	M/2	INT
41	100.0	91	68.3	133	47.4
43	89.5	93	81.6	147	26.3
53	28.9	105	52.5	161	28.9
55	51.8	107	47.4	189	59.2
77	35.8	109	39.5	204	32.9
79	44.7	119	32.9		
81	47.4	121	33.4		



COMPONENTE_N.53

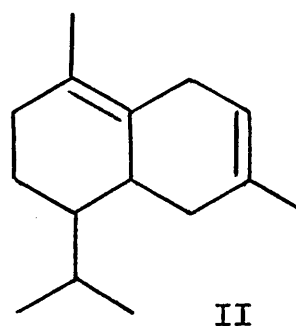
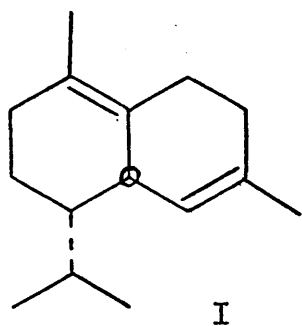
(Fig. 17)

M/2	INT	M/2	INT	M/2	INT
41	63.6	69	18.8	119	56.3
43	28.1	77	25.0	134	69.8
51	9.4	79	18.8	161	100.0
53	18.8	81	34.4	162	21.9
55	31.3	91	43.8	189	15.6
65	14.1	93	25.0	204	43.8
67	12.5	105	54.7		



δ-CADINENO

(Fig. 18)



Como se puede observar se trata de dos isómeros de posición con la misma nominación. Como en I está especificada la estereoisomería del compuesto hemos encontrado mas fiable la primera información.

57.- α -Curcumeno. Se eluye con n-hexano-eter, 96-4. Su espectro de masas coincide con los que da la bibliografía (43), (44), para este compuesto.

58.- La concentración de este componente, en los aceites donde existe es muy pequeña. Se ha podido registrar su espectro de masas, del cual sólo se puede deducir que se trata de un hidrocarburo sesquiterpénico.

59.- Aldehído cumínico. Su espectro de masas y su tiempo de retención coinciden con el del patrón.

60.- Mirtenol. Se eluye en cromatografía de columna líquido-sólido con n-hexano-eter, 80-20. Está presente en la mayoría de los aceites, alcanzando su mayor concentración en los T. gnaphalodes. Su espectro de masas coincide con el del patrón, así como su retención cromatográfica.

61.- trans-Carveol. Se eluye en cromatografía líquido-sólido con -

n-hexano-eter, 80-20. Está presente tan solo en algunas especies, y en cantidades minoritarias. Su espectro de masas parece coincidir con el que se cita en (26), para este compuesto.

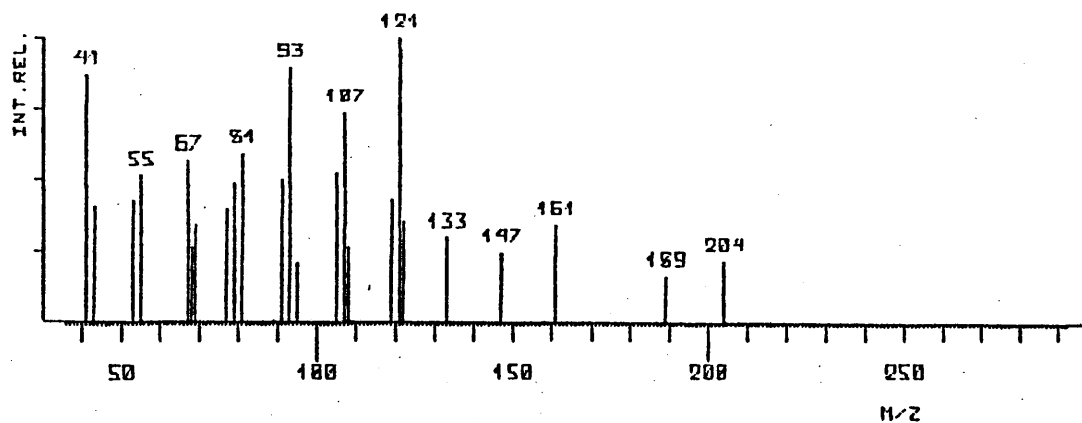
Con la misma retención cromatográfica, existe otro componente, también en pequeña concentración, cuyo espectro de masas (fig. - 19) indica que se trata de un hidrocarburo de peso molecular 204. - Los picos mas importantes de su espectro coinciden con los del - γ -elemeno. Sin embargo, nos harían falta mas datos para asignarle esa estructura, puesto que ambos espectros no coinciden exactamente.

62.- Calameneno. Se eluye por cromatografía líquido-sólido con n-hexano-eter, 98-12. El espectro de masas de este componente, coincide con el publicado para el calameneno en (28) y (41). Está presente en gran parte de los aceites, aunque generalmente a concentraciones no superiores al 2 %.

62'. - Se trata de un compuesto que se eluye con n-hexano-eter, 80-20. En su espectro de masas (fig. 20) se observa un ión molecular $M^+ = 152$, y sus primeros fragmentos a m/z 137 ($M^+ - CH_3$) y m/z 134 ($M^+ - H_2O$), lo que indica que debe tratarse de un alcohol monoterpénico y probablemente monocíclico dada la intensidad de su pico - $M^+ - 18$. Se ha comparado su espectro con el que se cita en (26) para el cis-carveol, y existe un gran parecido en el aspecto cualitativo de los picos mas representativos, con un pico base a m/z 84, análogamente.

Estudiadas las estructuras, que nos pueden conducir al ión m/z 84 como pico fundamental solamente son posibles las I y II. En ambas está favorecida la fragmentación retro-Diels Alder para pro-

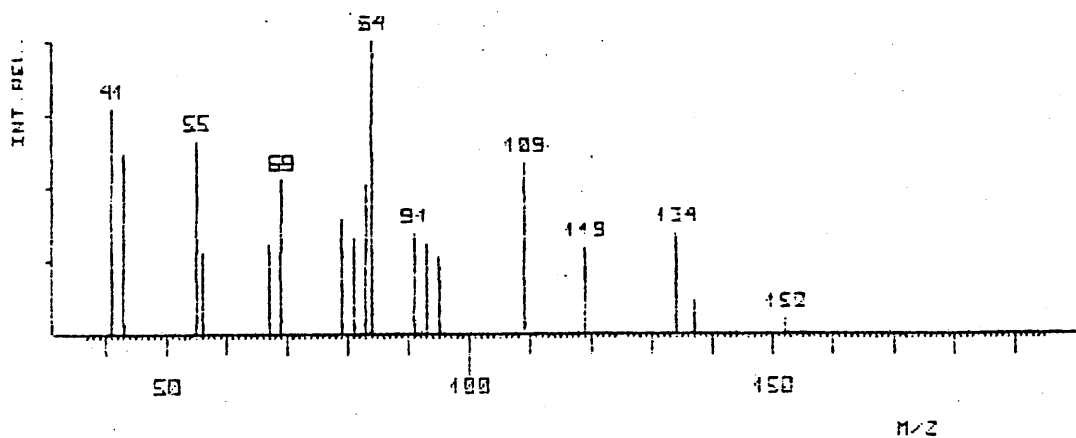
53	42.5	91	50.0	121	100.0
55	51.5	93	89.7	122	35.3
67	56.6	95	20.6	147	24.3
68	26.5	105	52.9	161	33.8
69	33.8	107	73.5	189	16.2
77	39.7	108	26.5	204	21.3



COMPONENTE N.61

(Fig. 19)

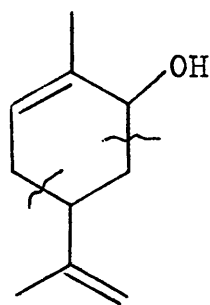
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	76.9	79	38.5	95	26.2
43	81.5	81	32.3	109	58.5
55	66.2	83	50.8	113	29.2
56	27.7	84	100.0	134	33.8
69	52.3	91	33.8	137	10.8
67	30.8	93	30.8	152	4.6



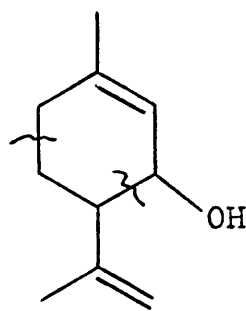
COMPONENTE N.62

(Fig. 20)

ducir dicho ión.



I



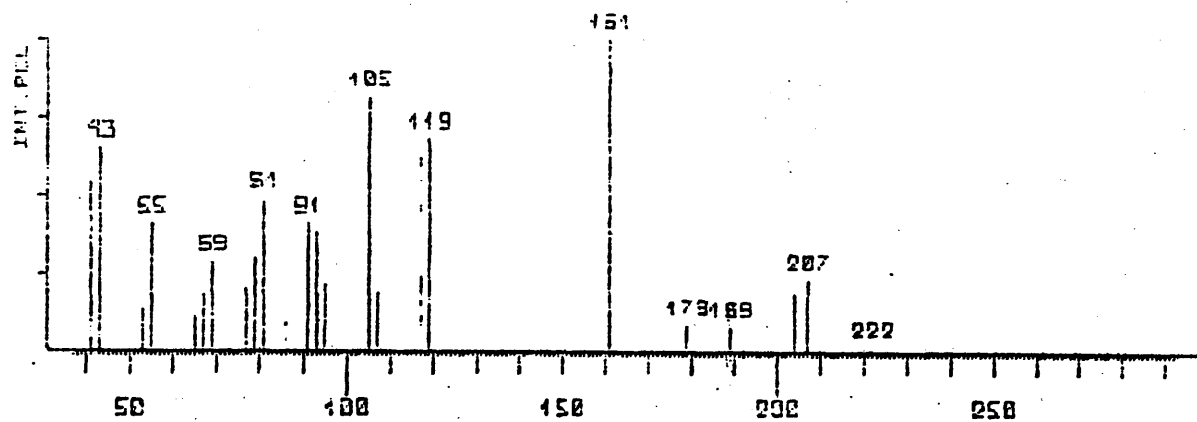
II

Sin embargo, en el espectro del compuesto correspondiente a la estructura II citado en (26), no aparece dicho ión entre los cinco primeros picos de mayor intensidad. Si además, tenemos en cuenta que el trans-carveol ya ha sido identificado (componente 61), lo mas probable es que este compuesto sea el cis-carveol (estructura I).

63.- Se eluye en una fracción de columna cromatográfica con n-hexano-eter, 75-25. Solo se dispone de su espectro de masas (fig. 21), del que no se ha encontrado ninguna referencia bibliográfica. Su ión molecular $M^+ - 222$ y los fragmentos a $M^+ - 15$ y $M^+ - 18$, indican que se trata de un alcohol o eter sesquiterpénico de fórmula empírica $C_{15} H_{22} O$. Su retención cromatográfica es mas propia de éteres, aunque no se excluye la posibilidad de un alcohol.

64.- Su concentración en los aceites no alcanza el 1 %, y no está presente en todas las especies. Se ha registrado el espectro de masas (fig. 22) de este componente a partir de una fracción cromatográfica de polaridad media. Su ión molecular $M^+ 150$, y los iones intensos $m/z 135$ ($M^+ - CH_3$) y $m/z 132$ ($M^+ - H_2O$) señalan que es un compuesto de fórmula empírica $C_{10} H_{14} O$. El ión $m/z 91$ (tropilio), y demás picos de menor intensidad del espectro, ponen de manifiesto el caracter aromático del compuesto, con lo que quedan cubiertas

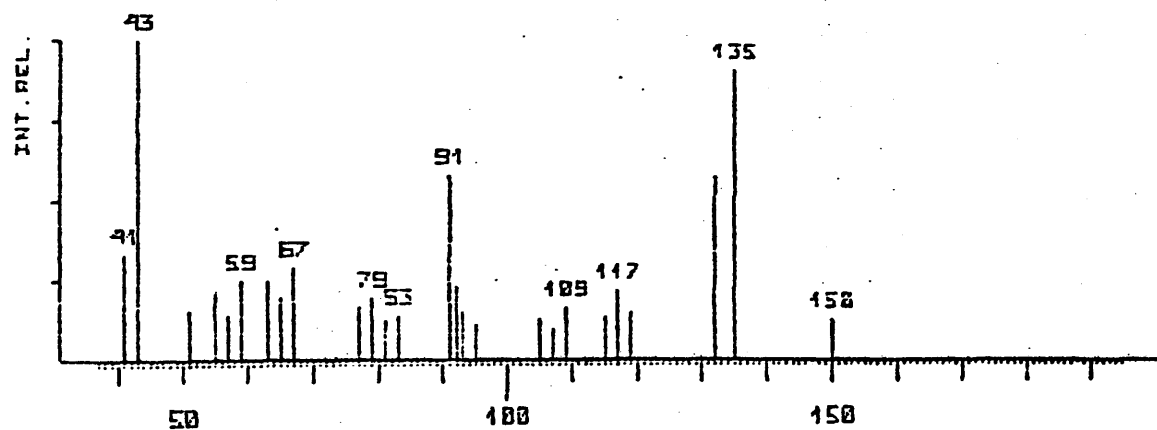
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	54.1	79	25.7	181	100.0
43	54.9	81	48.6	179	9.1
53	13.5	91	40.3	189	7.6
55	40.5	92	37.8	204	13.9
65	10.8	95	21.6	207	23.0
67	13.9	103	91.1	222	1.4
69	20.4	107	18.3		
77	20.3	119	57.6		



n/2 (fig. 21)

COMPONENTE N. 63

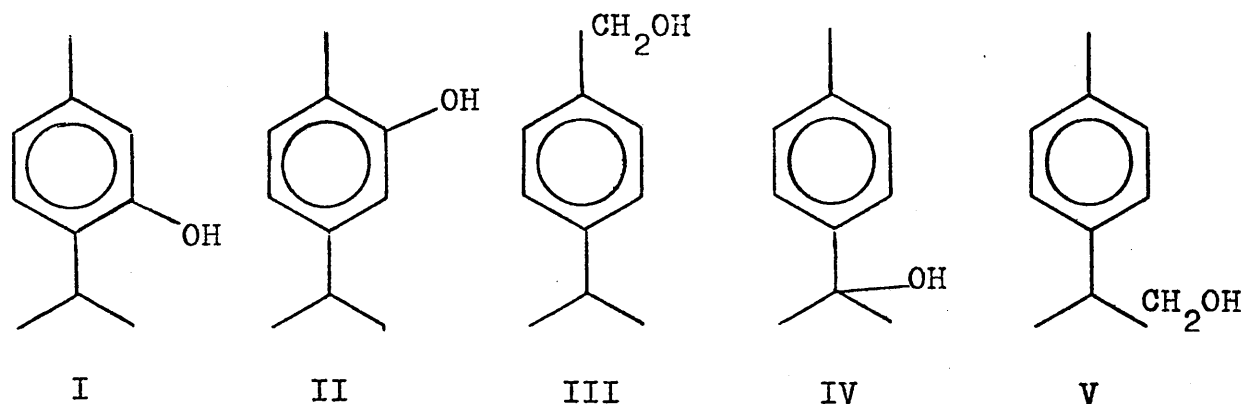
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	33.3	77	16.7	107	9.7
43	100.0	79	19.4	109	16.7
51	15.3	81	12.5	115	13.9
55	20.8	83	13.9	117	22.2
57	13.9	91	58.3	119	15.3
59	25.0	92	23.6	132	52.3
63	25.0	93	15.3	135	93.1
65	19.4	95	11.1	150	13.2
67	29.2	105	13.2		



n/2 (fig. 22)

COMPONENTE N. 64

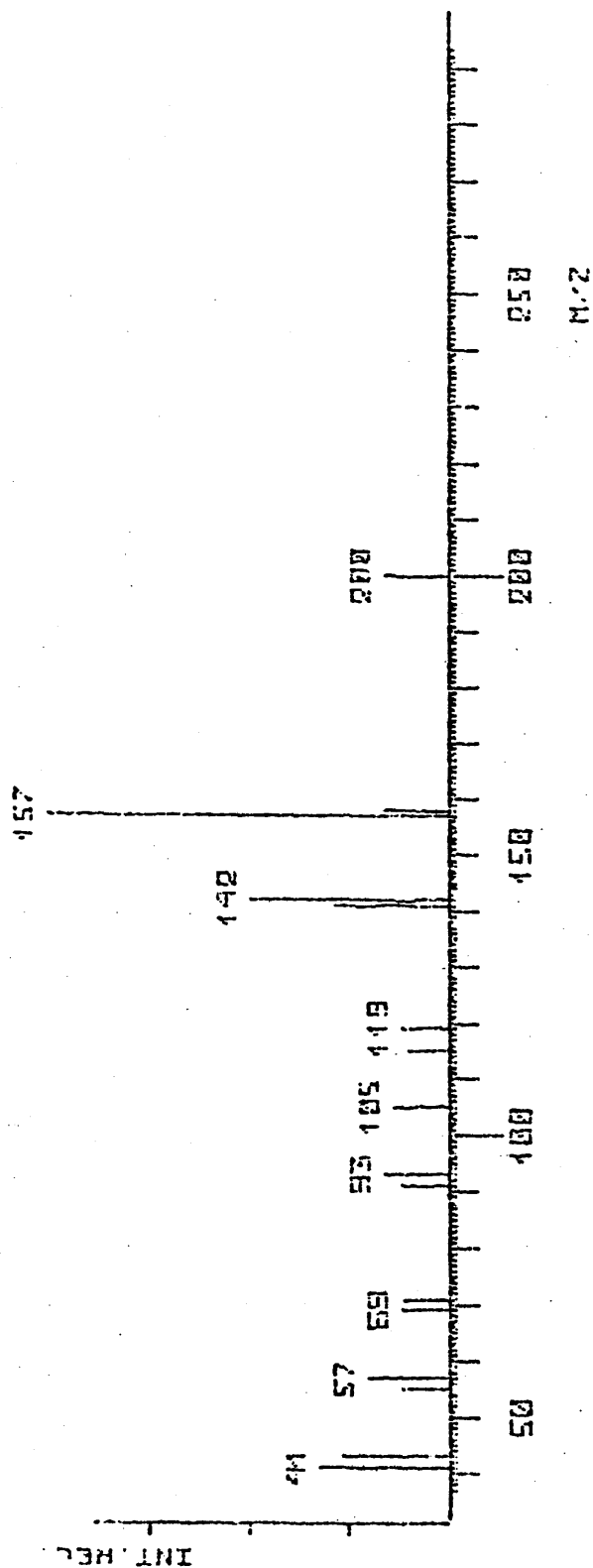
las cuatro insaturaciones permitidas para esta fórmula molecular. Con un grupo hidroxilo y estructura aromática solo se pueden formular las siguientes estructuras terpénicas:



Las tres primeras pertenecen a compuestos cuyos espectros de masas son perfectamente conocidas (timol, carvacrol, cuminol), y no coinciden con el nuestro. Sobre la estructura IV, figuran tres espectros muy diferentes en la literatura (45), (46), (47), para el mismo compuesto, ninguno de ellos coincidente con el nuestro. El aspecto del espectro de (46) es muy parecido al del registrado por nosotros. Sin embargo, al no disponer de patrón ni de otros datos, no podemos asignar con seguridad dicha estructura a nuestro compuesto. Sobre la V no se dispone de ninguna información.

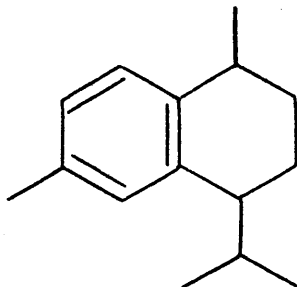
65 y 67.- Isómeros del Calameneno deshidrogenado. Se encuentran en una fracción eluida con n-hexano-eter, 98-2. Sus espectros de masas (fig. 23) que son similares sugieren que se trata de dos hidrocarburos sesquiterpénicos de masa molecular 200 y fórmula empírica, - por tanto, C₁₅ H₂₀. La parte baja del espectro es similar a la del calameneno, hidrocarburo de peso molecular 202. Los picos de mayor masa, que son los de mayor intensidad, son dos unidades menores que los del calameneno. Esto nos lleva a pensar que puede tratarse de productos de deshidrogenación del mismo. Siendo la estructura de este hidrocarburo:

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	32.0	91	12.0	142	50.0
43	25.0	93	16.0	157	100.0
55	12.0	105	14.0	158	16.0
57	20.0	115	16.0	200	16.0
69	12.0	119	12.0		
71	10.3	141	28.0		



CALAMENENO-H2

(fig. 23)



Una insaturación más, daría lugar a seis isómeros de posición. Con los datos de que se dispone, es muy difícil de precisar la posición del nuevo doble enlace en la parte saturada de la molécula de calameneno. Los componentes 65 y 67 deben ser dos estereoisómeros, de un calameneno deshidrogenado.

66.- Se trata de un componente, cuyo peso molecular es 192. No se ha podido obtener el espectro de masas del compuesto totalmente puro. Sin embargo, su aspecto general recuerda al de las iononas. Si tenemos en cuenta además, que presenta una retención muy próxima a la de la β -ionona, podríamos pensar que se trata de uno de los isómeros de ésta.

67'.- En la mayoría de las especies, con esta retención cromatográfica se ha localizado el isómero del calameneno deshidrogenado ya citado anteriormente (componente 67), junto con el componente 65. En el T. pseudochamaepitys, se ha localizado un compuesto con esta misma retención, de naturaleza diferente. Su espectro de masas y tiempo de retención, coinciden con los del patrón de β -ionona.

68.- Se eluye en la misma fracción cromatográfica que el componente 63, y posee un espectro de masas similar al de este compuesto. Esto sugiere que puedan tratarse de dos estereoisómeros de un compuesto, cuya estructura posea mas de un carbono asimétrico.

68'. - Alcohol Perfílico. Aparece en algunos aceites, con una retención muy similar a la del componente anterior. Se ha identificado por comparación de su espectro de masas con el que figura en (48), para este compuesto.

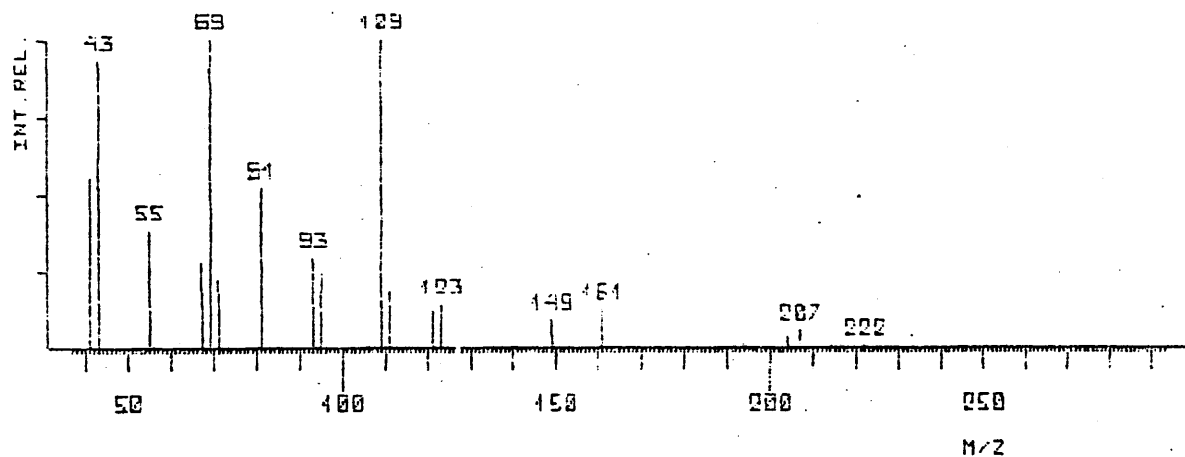
69.- Oxido de Cariofileno. Se eluye con n-hexano-eter, 85-15 , por cromatografía en columna líquido-sólido. Está presente en la mayoría de las especies. Sin embargo, es particularmente importante en el T. gnaphalodes. Su espectro de masas y de ^1H -RMN coinciden con los que figuran (49), para este compuesto.

70.- Cubenol. Se eluye con n-hexano-eter, 92-8. A partir de esta fracción se registró su espectro de masas que coincide con el citado en la bibliografía (28).

71.- De su espectro de masas (fig. 24), se deduce un peso molecular de 222. No se dispone de otros datos que ayuden a elucidar sus características estructurales y en la bibliografía consultada no aparece ningún compuesto cuyo espectro de masas coincida totalmente - con el de este componente. En (39) aparece citado el espectro de masas del dihidrofarnesal, cuyos picos de mayor intensidad coinciden con los del nuestro, aunque las intensidades relativas son diferentes.

72.- En general, es un componente presente a pequeña concentración. Se ha registrado su espectro de masas (fig. 25) de una fracción eluida con n-hexano-eter, 88-12. Este no coincide con ninguno de los consultados en la bibliografía. Los picos mas importantes de dicho espectro, son los mismos que presenta el epóxido de humuleno II - que se cita en (50), como picos de mayor intensidad. El m/z 138, - es un pico poco corriente en las estructuras mas frecuentes de -

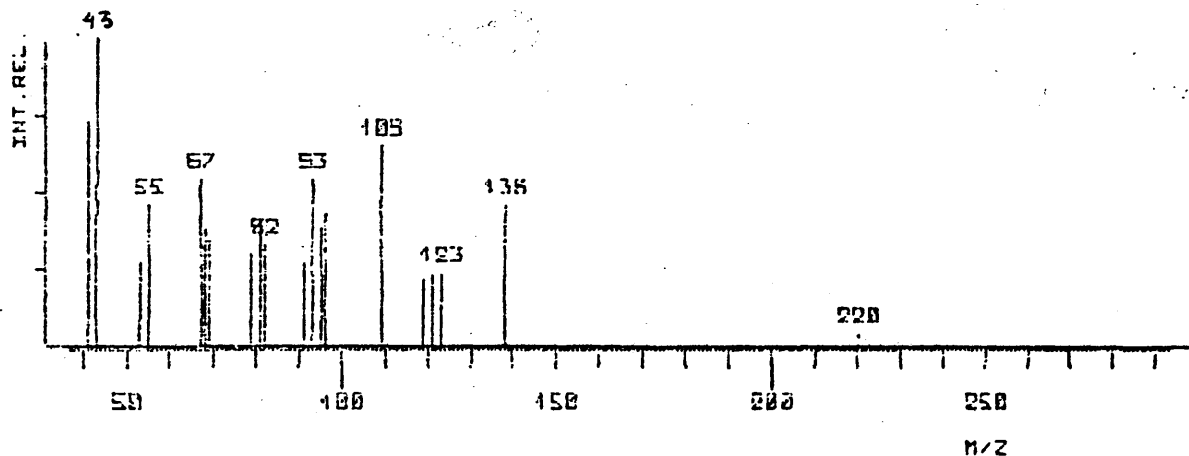
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	55.2	81	51.7	123	13.8
43	93.1	93	29.3	149	8.6
55	37.9	95	24.1	161	12.1
67	27.6	109	108.0	204	3.4
69	108.0	111	19.0	207	5.2
71	22.4	121	12.1	222	0.3



COMPONENTE N.71

(Fig. 24)

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	73.0	79	29.7	109	64.9
43	100.0	81	39.2	119	21.6
53	27.0	82	32.4	121	23.0
55	45.9	91	27.0	123	23.6
67	54.1	93	54.1	138	45.9
68	37.8	95	37.8	220	4.1
69	33.8	96	43.2		



COMPONENTE N. 72

(Fig. 25)

de esqueletos sesquiterpénicos, lo que nos induce a pensar que se trata de este compuesto o de otro con estructura muy similar.

73.- Nerolidol. Identificado por comparación de sus espectro de masas y ^1H -RMN con el del patrón. Su concentración es importante en muchos aceites. Alcanza sus valores máximos en los T. capitatum de Vaciamadrid, y T. gnaphalodes.

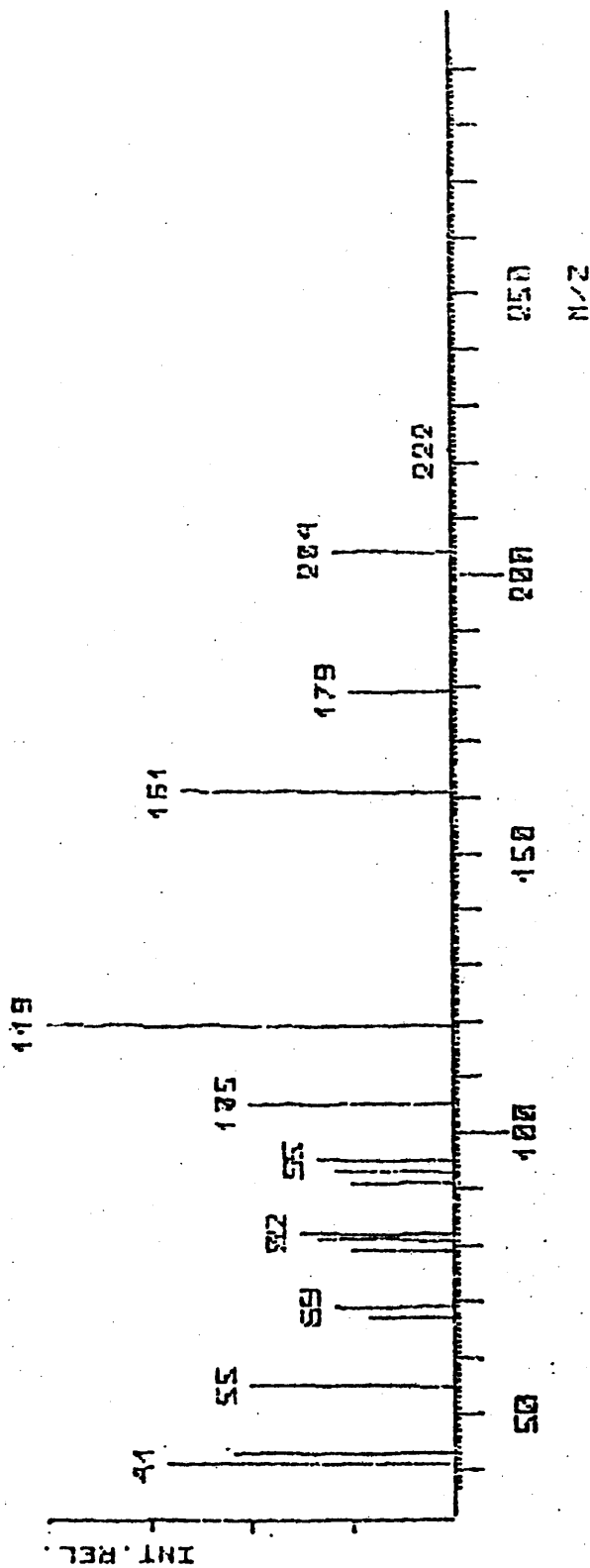
74.- Cadinenol. En cromatografía en columna líquido-sólido, se eluye con n-hexano-eter, 88-12. Los picos mas importantes de sus espectro de masas (fig. 26), coinciden con los que se citan en la bibliografía para este compuesto (51). Para confirmar su estructura se ha aislado este componente por GC preparativa y se registró su espectro de IR y de ^1H -RMN. En efecto, el espectro IR presenta a 3460 cm^{-1} la banda de alcohol. Su espectro de ^1H -RMN (fig. 27) presenta las siguientes bandas características:

- a) Una banda a $\delta = 5,36$ ppm debida a un solo protón olefínico, ensanchada por acoplamiento a larga distancia con protones de grupo metilo.
- b) Banda ancha a $\delta = 1,67$ ppm de metilo contiguo a doble enlace.
- c) A $\delta = 0,84$ ppm está centrado un triplete, que en realidad corresponde a dos dobletes ($J = 6$ Hz) de protones de grupo isopropilo.
- d) La señal de resonancia de metilo en carbono terciario aparece a $\delta = 0,94$ ppm como un doblete ($J = 6$ Hz).
- f) No aparece señal de protón en carbono contiguo a OH, lo que confirma que el hidroxilo está en un carbono cuaternario.

Estas características son perfectamente coherentes con la estructura del cadinenol.

Está presente en algunos aceites a concentraciones minorita-

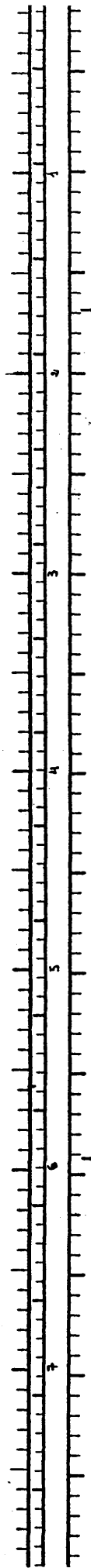
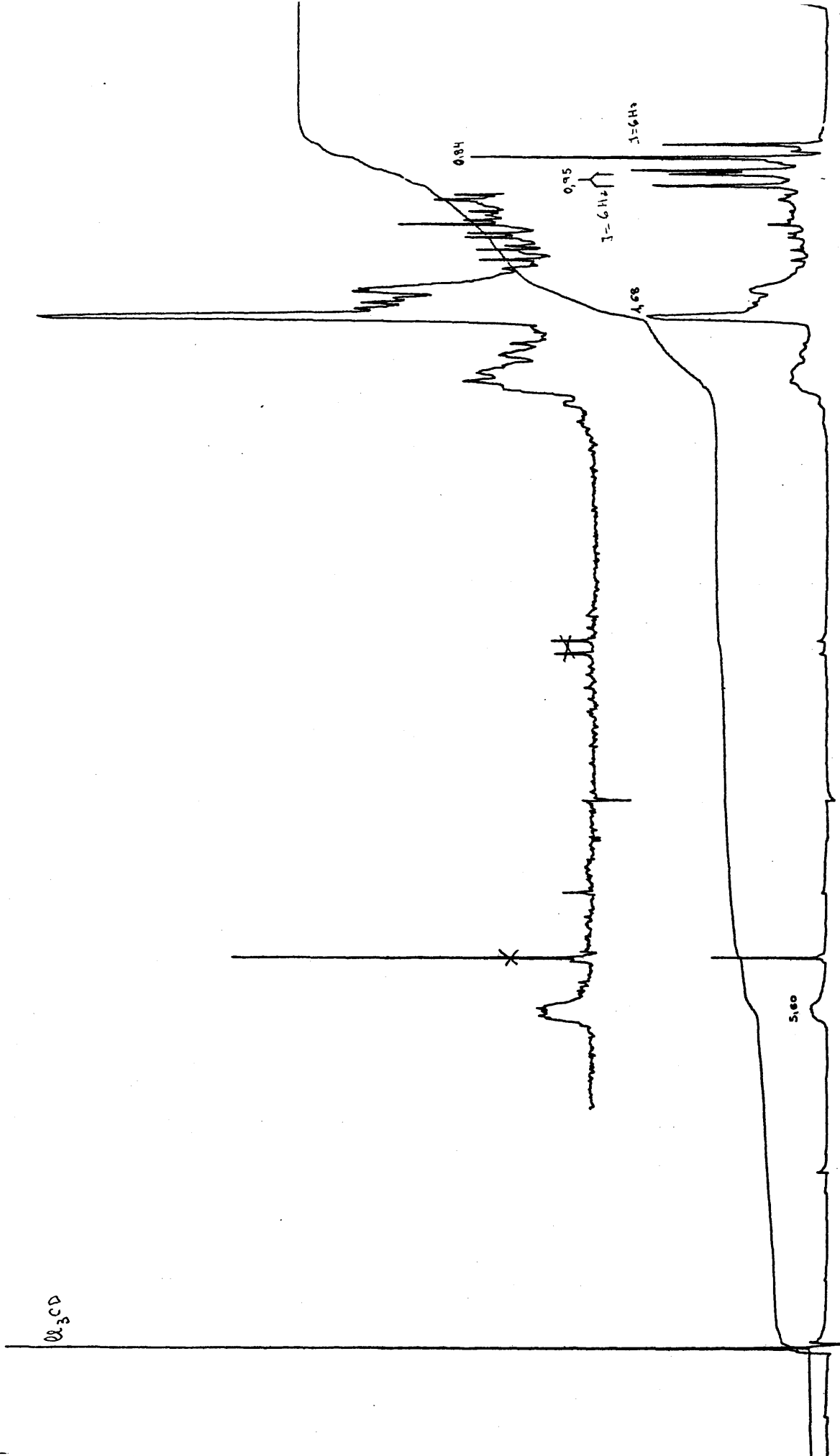
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	70.8	81	33.3	119	100.0
43	54.2	92	37.5	151	66.7
55	50.0	93	23.0	179	25.0
69	29.2	95	33.3	204	29.2
67	20.8	105	50.0	222	0.7
79	25.0				



(fig. 26)

CADINENOL

ppm



rias.

75.- Está presente siempre en cantidades minoritarias. De su espectro de masas, registrado de una fracción polar, solo se deduce que se trata de un alcohol sesquiterpénico de peso molecular 222, lo que está de acuerdo con su retención cromatográfica. Por otra parte el ión a m/z 189, como pico base del espectro, apunta hacia una estructura con esqueleto de eudesmano.

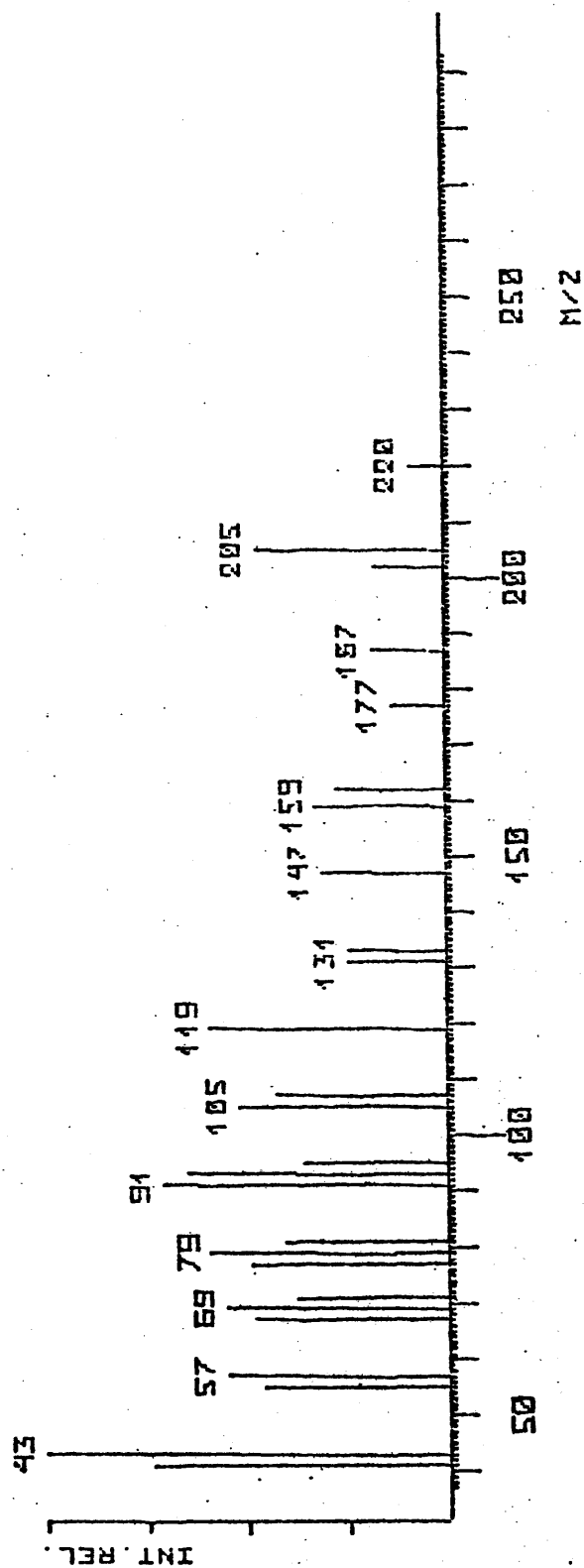
76.- Elemol. Su espectro de masas, obtenido de una fracción cromatográfica de alta polaridad, parece indicar que se trata de este compuesto al compararlo con el que aparece en (52).

77.- Se eluye por cromatografía en columna líquido-sólido, con disolventes de alta polaridad. Su espectro de masas indica que es un alcohol sesquiterpénico $C_{15}H_{26}O$. Dicho espectro, no coincide con ninguno de los consultados en la bibliografía, ni se ha podido obtener mas datos de él.

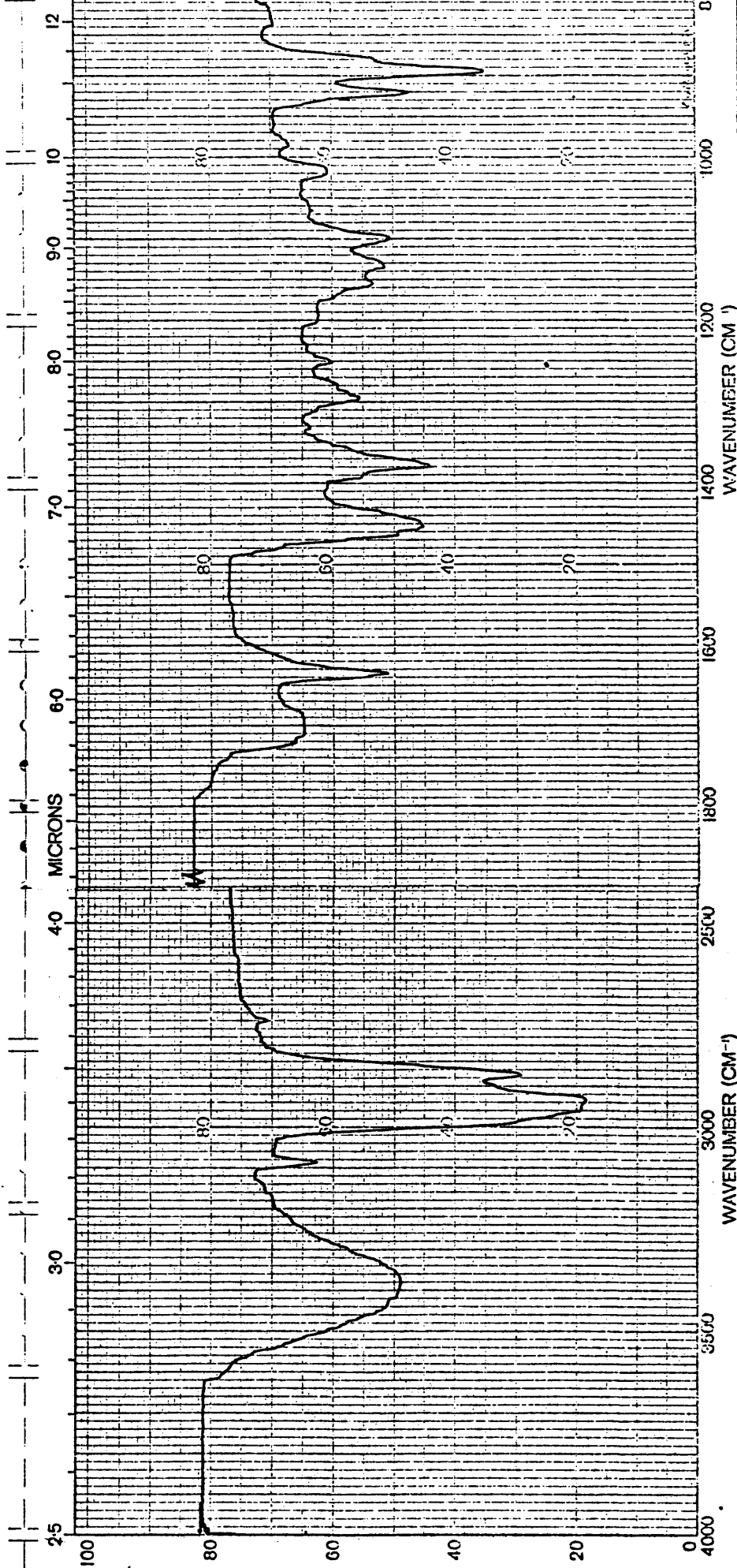
78.- Se eluye en columna cromatográfica líquido-sólido, en las fracciones de alta polaridad. Del espectro de masas de este compuesto (fig. 28), se deduce un peso molecular de 220. La señal $M^+ - 18$, pone de manifiesto la presencia de función oxigenada. Corresponde por tanto para este componente, una fórmula empírica de $C_{15}H_{24}O$. No hemos encontrado en la bibliografía compuestos con espectros de masas similares al de este componente.

El aislamiento del compuesto por GC preparativa, a partir de fracciones polares, nos ha permitido realizar además, sus espectros de IR y 1H -RMN. La banda a 3.380 cm^{-1} de su espectro IR (fig. 29), indica la presencia de grupo OH, así como la que aparece a -

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	73.7	81	40.4	147	30.3
43	100.0	91	70.7	159	32.3
55	45.5	93	64.6	162	27.3
57	54.5	95	35.4	177	13.1
67	47.5	105	51.5	187	18.2
69	54.5	107	42.4	202	17.2
71	37.4	119	58.6	205	46.5
77	48.5	131	24.2	220	8.1
79	58.6	133	24.2		

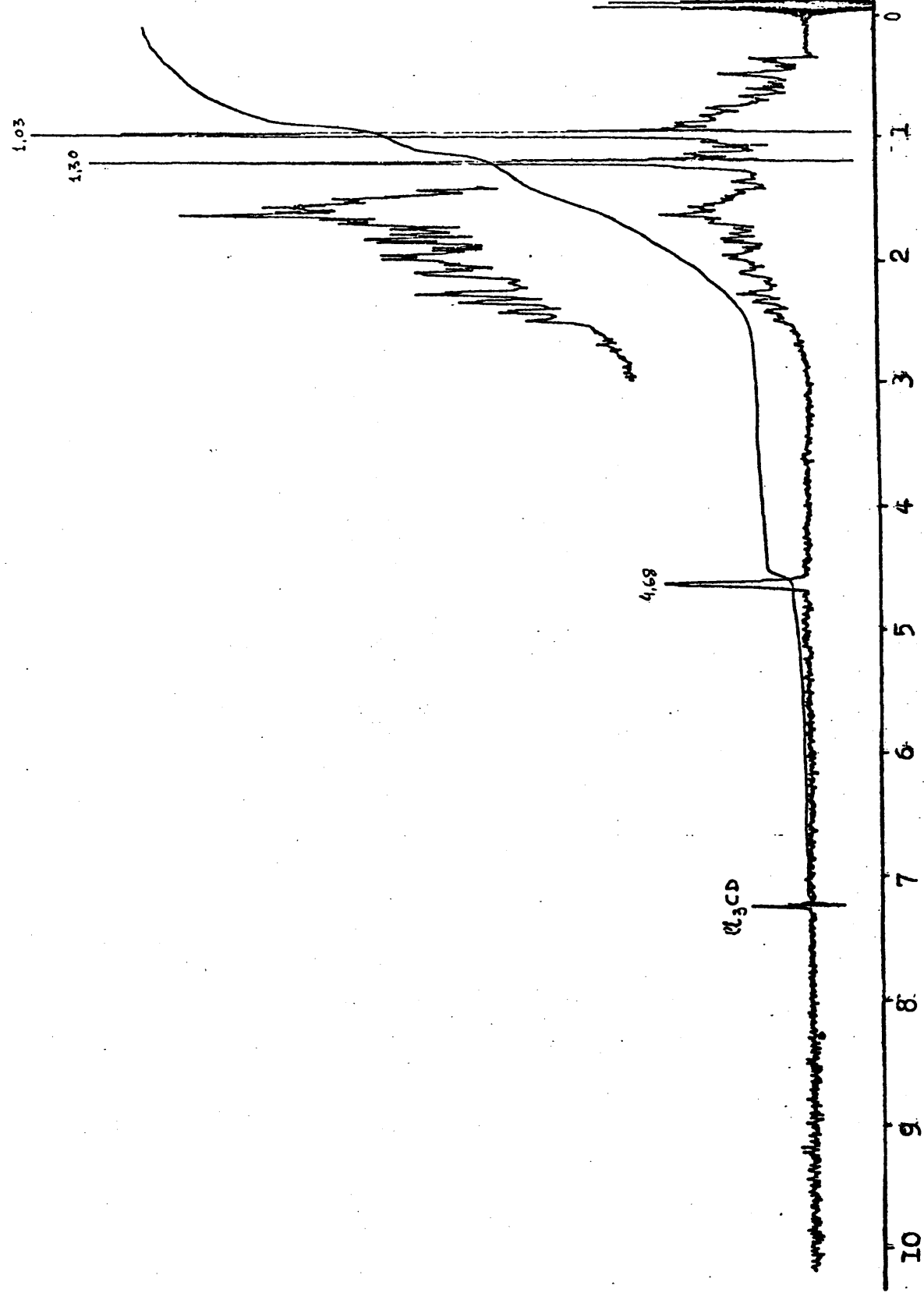


COMPONENTE N. 78 (fig. 28)



SAMPLE	SOLVENT	CONCENTRATION	CELL PATH	REFERENCE	REMARKS	SCAN SPEED	OPERATOR
						SLIT	DATE
ORIGIN						PERKIN ELMER	REF. No.
						PART NO. 472-5089	

(fig. 29)

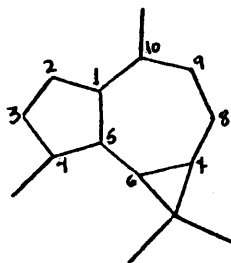


1.635 cm^{-1} nos señala la existencia de dobles enlaces. Por otra parte, su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (fig. 30) presenta las siguientes bandas características:

- Una banda ancha centrada a $\delta = 4,68\text{ ppm}$, que revela la existencia del grupo $\text{>C} = \text{CH}_2$.
- Singlete a $\delta = 1,30\text{ ppm}$ de metilo en carbono contiguo a OH.
- Dos singletes a $\delta = 1,03\text{ ppm}$, correspondientes a dos metilos en carbono cuaternario.
- A campo mas alto, aparecen una serie de señales muy características de protones de un ciclo de tres miembros.

La hidrogenación catalítica del producto, nos lleva a la conclusión, de que la única insaturación que posee el compuesto, - en forma de doble enlace, es la del grupo $\text{>C} = \text{CH}_2$, puesto que se descarta la posibilidad de dobles enlaces tetrasustituídos. De esto se deduce, que la estructura posee necesariamente un sistema - tricíclico.

Estos datos estructurales, apuntan hacia una estructura - derivada del esqueleto de aromadendrano:



Lo que no se puede precisar, es la posición del grupo hidroxilo y del metileno terminal, ya que caben para ello, las posiciones C_4 , C_{10} ó C_{10} , C_4 , respectivamente.

79.- Isoeugenol. Su espectro de masas y retención cromatográfica, coinciden con los del patrón.

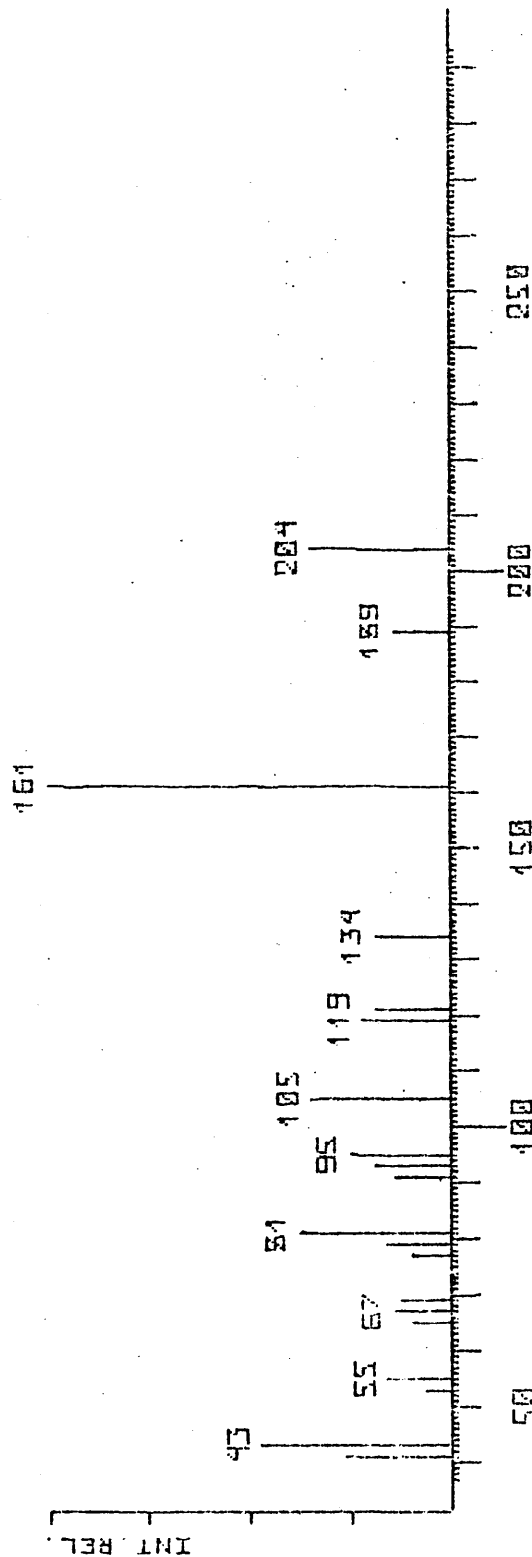
80.- t-Cadinol. Está presente en la mayoría de las especies y su concentración generalmente no sobrepasa el 5 %. En cromatografía en columna, se eluye en las fracciones de mayor polaridad junto a los alcoholes sesquiterpénicos. Se ha registrado su espectro de masas (fig. 31), que no coinciden exactamente con ninguno de los consultados en la bibliografía, ni de los patrones disponibles. De las fracciones mas enriquecidas se ha conseguido aislar, por cromatografía de gases preparativa.

Su espectro de masas presenta como pico de mayor masa el m/z 204, sin embargo, es evidente que no se trata de un hidrocarburo, tanto por su retención cromatográfica como por la fracción en que se eluye por cromatografía líquido-sólido. Debe tratarse por tanto, de un alcohol o éter sesquiterpénico de ión molecular 222, que por pérdida de agua produce el fragmento a m/z 204. Su retención cromatográfica, por otra parte, es más característica de alcoholes, lo que se confirma por la desaparición de la banda de OH del espectro de ^1H -RMN al agitar con agua deuterada y por la presencia de la correspondiente banda a 3.440 cm^{-1} , en su espectro infrarrojo. Se trata pues, de un alcohol sesquiterpénico de fórmula empírica $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$, con tres insaturaciones por lo tanto.

Las bandas mas características de su espectro de ^1H -RMN (fig. 32) se indican a continuación:

- Una banda ancha a $\delta = 5,55\text{ ppm}$ debida a un protón olefínico.
- La presencia de un grupo metilo unido a doble enlace se pone de manifiesto por la banda ancha que aparece a $\delta = 1,65\text{ ppm}$.
- Un singlete a $\delta = 1,20\text{ ppm}$ que integra por tres protones, es -

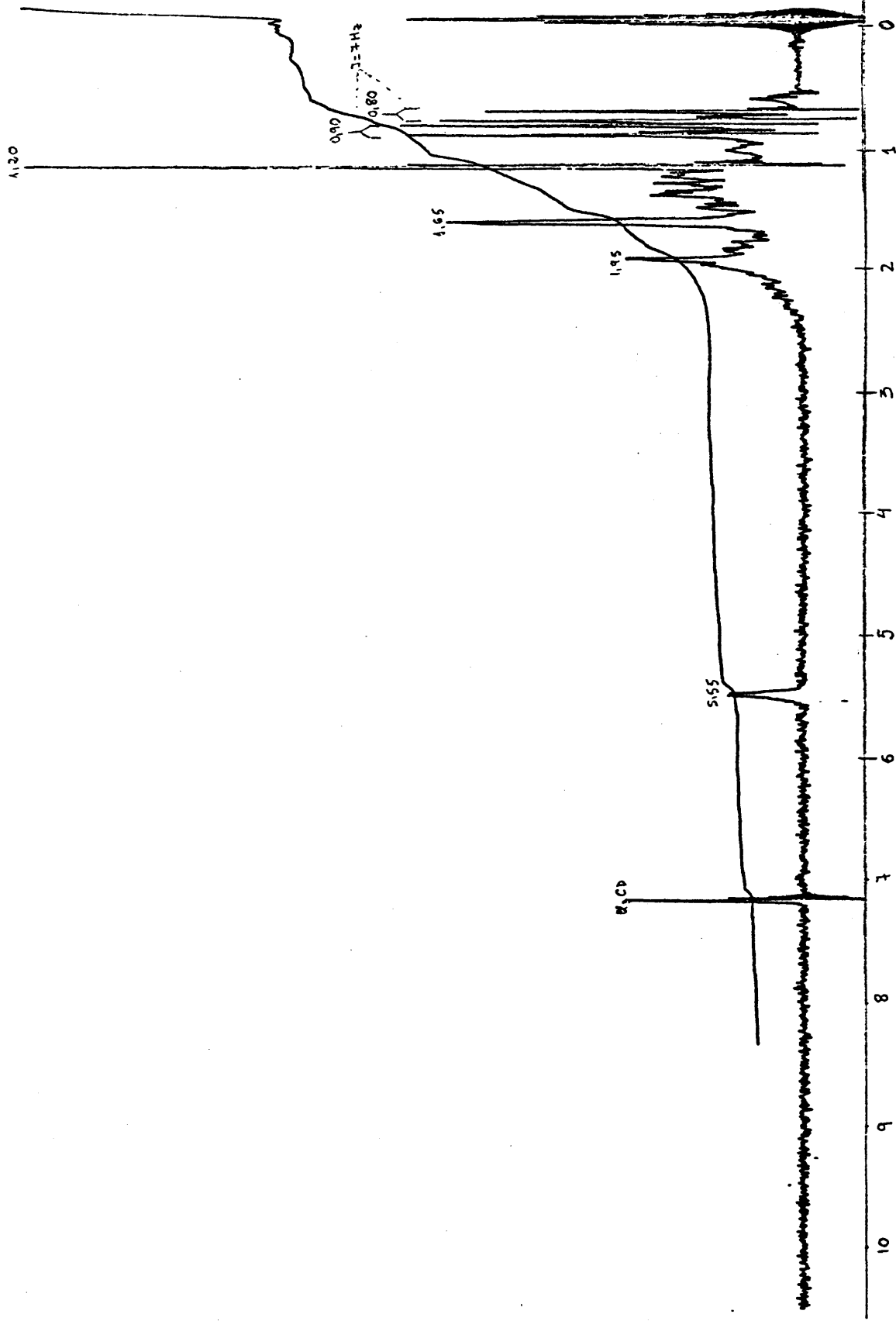
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	26.6	77	9.4	119	21.9
43	46.9	79	15.6	121	18.8
53	6.3	81	37.5	134	18.8
55	15.6	91	14.1	161	100.0
65	9.4	93	18.8	189	14.1
67	14.1	95	25.0	204	34.4
69	12.5	105	34.4		



COMPONENTE 80.

M/Z (fig. 31)

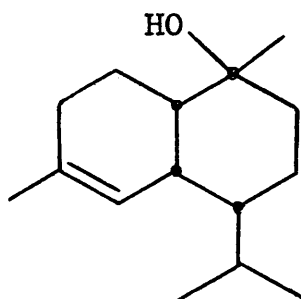
(c)



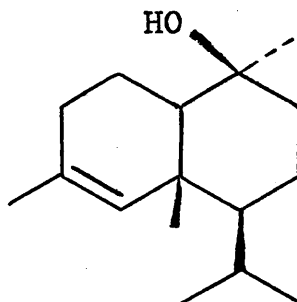
indicativa de un metilo en carbono cuaternario, portador de grupo OH.

d) Dos dobletes a $\delta = 0,80$ y $\delta = 0,90$ ppm ($J = 7\text{Hz}$) de los dos metilos de un grupo isopropilo.

Se han aislado otros alcoholes sesquiterpénicos (componentes 82, 86) de distinta retención cromatográfica, cuyos espectros de masas, practicamente idénticos, parecen coincidir con los citados en (28, 41) para el α -cadinol. Sus espectros de ^1H -RMN son - además muy similares y a su vez de análogas características al del componente 80, que estamos considerando. La estructura de los cadi-noles, no está en contradicción con ninguno de los datos que posee-



mos de este compuesto. Esta estructura posee cuatro átomos de carbono asimétrico, por lo que es de esperar la existencia de ocho estereoisómeros, cuya identificación requiere otros datos que no hemos podido obtener. Sin embargo, un cierto parecido del espectro - de masas con el que se cita en (50) para el t-cadinol, sugiere que



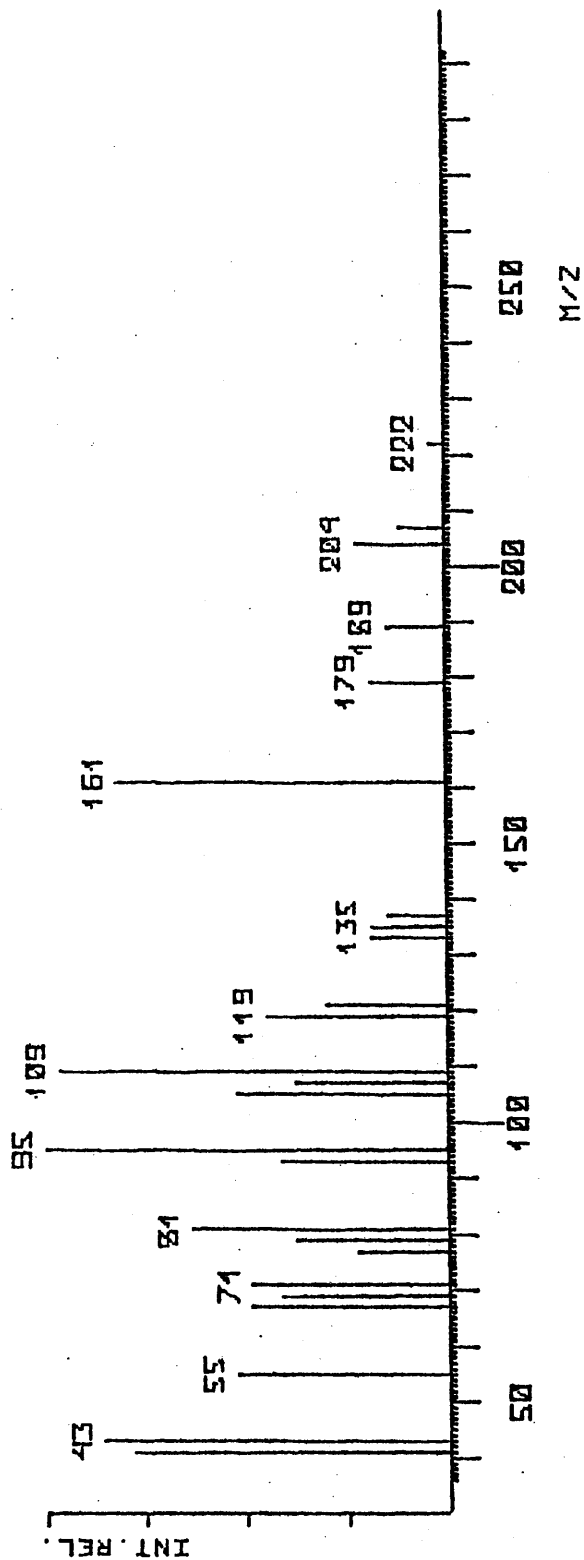
se trata de este compuesto, aunque no se puede afirmar con toda certeza.

81.- Está presente solamente en los aceites de T. gnaphalodes. Se eluye por cromatografía en columna líquido-sólido con n-hexano-éter (85 -15). A la vista de su espectro de masas, (fig. 33) y consultada la bibliografía, no podemos deducir la estructura de este componente. El ión molecular es un M^+ 222, y los picos a m/z 204 y 207 indican la presencia de una función alcohol, lo que se confirma por la banda ancha a 3.380 cm^{-1} de su espectro infrarrojo. Le debe corresponder, por lo tanto, una fórmula empírica de $C_{15}H_{26}O$, con tres insaturaciones.

Su espectro de ^1H -RMN (fig. 34) tampoco conduce a conclusiones definitivas sobre su estructura. En él se observan algunas bandas en la zona de protones olefínicos, que proceden con seguridad de impurezas, pues, al hidrogenar el compuesto se mantiene su peso molecular. Se trata pues, de un alcohol saturado. Por tanto, debe tener una estructura tricíclica. A $\delta = 3,53\text{ ppm}$ aparece una banda característica de protón geminal a OH, con forma de pseudotriplete. Centradas a $\delta = 0,80\text{ ppm}$ aparecen unas bandas agudas, que deben corresponder a grupos metilos, cuya multiplicidad resulta difícil de estimar.

El hecho de que el desplazamiento químico de éstos metilos sea muy similar y el escaso desdoblamiento de las bandas parece indicar que la mayoría de ellas corresponden a metilos cuaternarios. Es muy difícil con estos datos establecer una estructura base de hidrocarburo tricíclico, pues, entre las mas comunes no hay ninguna que presente todos los metilos cuaternarios.

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	77.8	93	40.8	137	14.9
43	85.3	95	100.0	161	81.5
55	51.8	105	51.8	179	18.5
67	48.2	107	37.1	179	18.5
69	40.8	109	96.3	189	14.8
71	48.2	119	44.5	204	22.3
77	22.3	121	29.7	207	11.1
79	37.1	133	18.5	222	3.7
81	63.0	135	18.5		



(fig. 33)

COMPONENTE N. 81

0.86

3.53

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

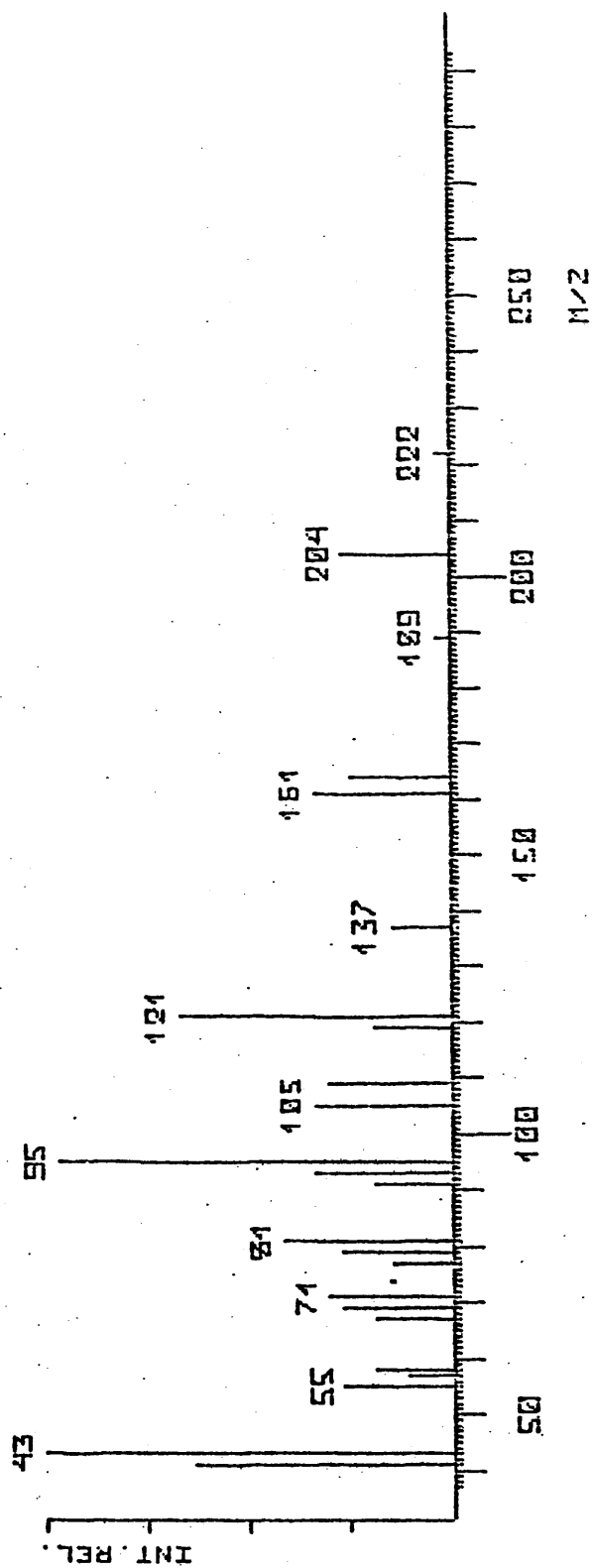
A falta de mayor cantidad de datos, que no hemos podido - obtener por disponer de poca cantidad de producto, que además no es totalmente puro, no se ha conseguido un mayor esclarecimiento de la estructura de este compuesto.

82.- Cadinol I. Se encuentra a mayor concentración en el T. ericephalum. Su naturaleza es muy similar a la del componente 80, por lo que su separación a resultado muy dificultosa. Esta se ha conseguido por sucesivos fraccionamientos en columna, utilizando el colector de fracciones, y finalmente por cromatografía de gases preparativa. Su espectro de masas (fig. 35) parece coincidir con el citado en (28, 41) para el α -cadinol. Sin embargo, el componente 86, que se eluye en una fracción cromatográfica de mayor polaridad, y posee una mayor retención en GC, presenta un espectro de masas muy similar. Hemos creído conveniente separar y aislar ambos componentes para su mejor caracterización.

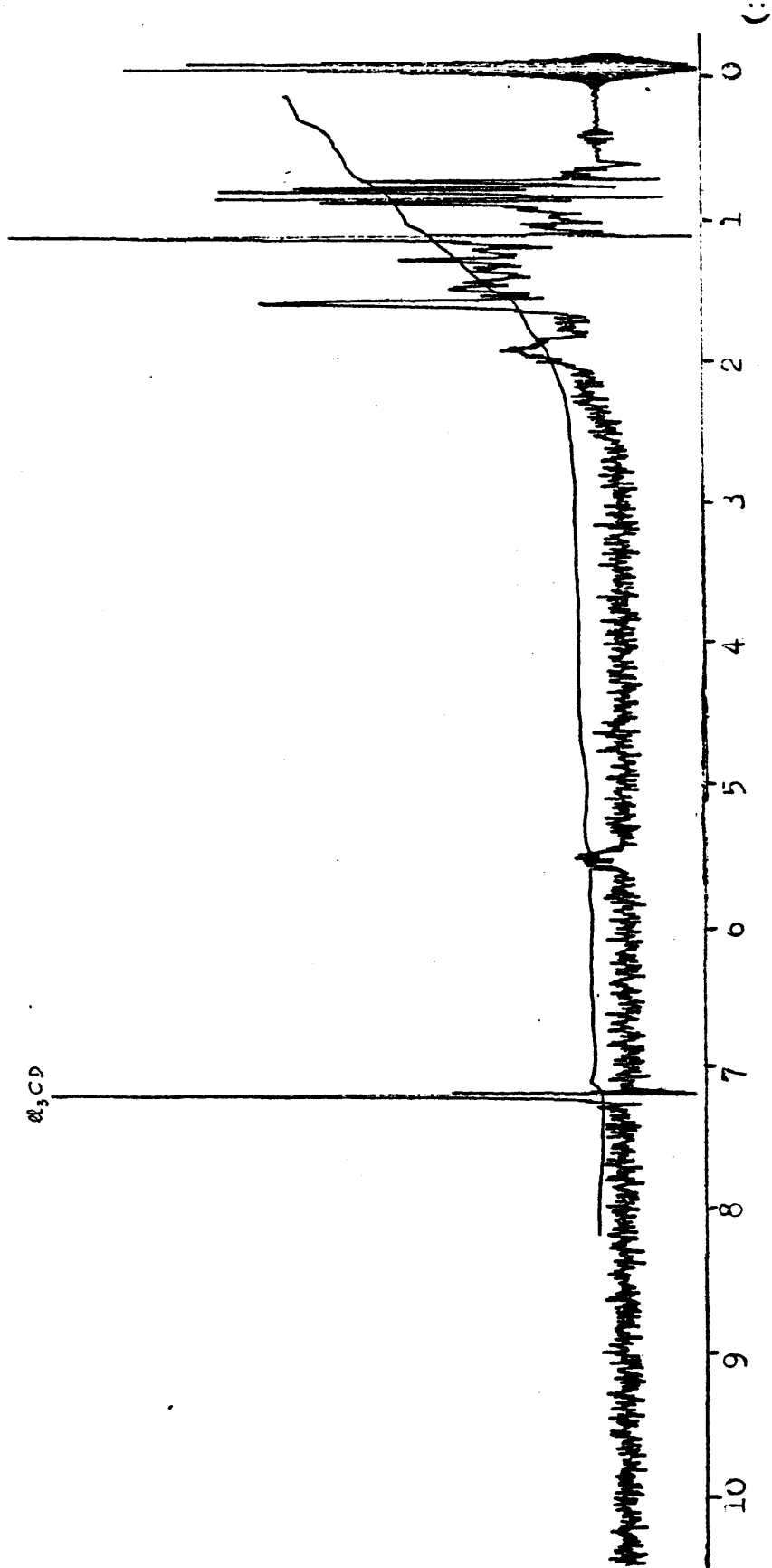
El espectro de ^1H -RMN (fig. 36) del componente que nos ocupa, presenta el mismo tipo de bandas, con desplazamientos y constantes de acoplamiento muy similares a las del componente 80. Tan solo presenta pequeñas diferencias, en el acoplamiento de los protones del isopropilo, y el desplazamiento de la banda del metilo contiguo a OH. Este tipo de resonancia es perfectamente coherente con la estructura citada del α -cadinol, por lo que debe tratarse, como se ha dicho, de uno de sus estereoisómeros posibles.

82'. - Timol. En GC el pico correspondiente a este componente aparece enmascarado en la mayoría de los aceites estudiados por el del componente 82, salvo en los de T. pseudochamaepitys y T. chamaedrys que está presente solo este componente. Para su identificación se ha usado su patrón.

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	53.0	77	14.9	119	13.5
43	100.0	79	25.9	121	65.7
55	25.9	81	40.7	137	14.8
57	11.1	91	18.5	161	33.3
58	18.5	93	33.3	164	24.1
67	18.5	95	96.3	189	3.7
69	25.9	105	33.3	204	25.9
71	29.6	109	29.6	222	3.7



COMPONENTE N. 82 (fig. 35)



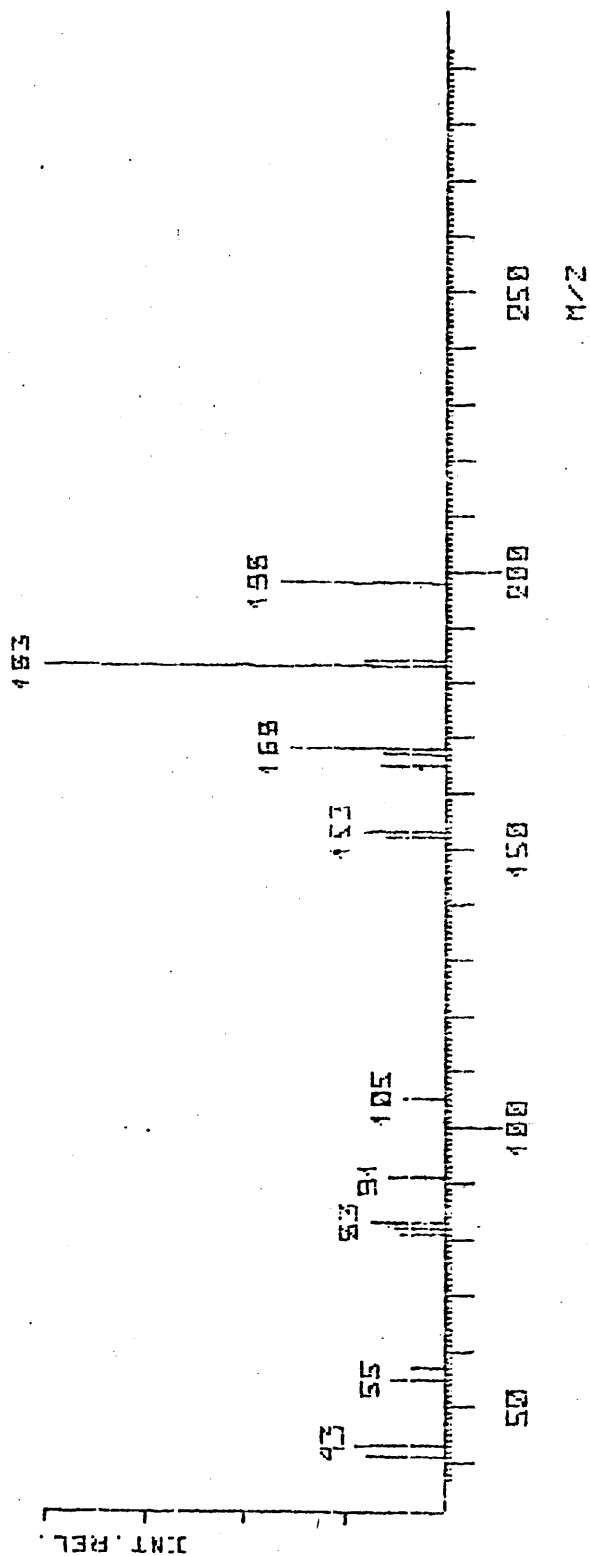
83.- Farnesol. Su espectro de masas y retención cromatográfica - coinciden con las del patrón.

84.- 1,6 - dimetil - 4 - isopropilnaftaleno. Se eluye en una fracción polar, por cromatografía en columna líquido-sólido, a partir de la cual se ha registrado su espectro de masas (fig. 37). La gran intensidad de los picos a mayor masa, y la presencia de los picos a m/z 91 y 105, sugieren su carácter aromático. Su ion molecular - es 198 y el pico base aparece a m/z 183 = M^+ - 15. El espectro no es el del compuesto totalmente puro, y en la parte baja del mismo, hay picos que no corresponden a este compuesto. Los picos mas importantes son los mismos que se dan en (25) para el 1,6-dimetil-4-isopropilnaftaleno. No se dispone de otros datos que confirmen su estructura, la que consideramos bastante probable, por su relación con los esqueletos terpénicos.

85.- Con la misma retención cromatográfica, se encuentran dos compuestos de muy distinta naturaleza, en algunas especies. Uno de - ellos, es un compuesto sesquiterpénico de peso molecular 222. El espectro de masas no se ha podido conseguir del componente totalmente puro, puesto que éste siempre sale junto al carvacrol, que - se ha podido identificar por GC, dado que se dispone de patrón, y por algunos picos significativos de su espectro de masas. En el - análisis cuantitativo se engloba para el componente número 85 la suma de ambos compuestos.

86.- Cadinol II. Ya se ha mencionado al hablar de los componentes 80 y 82 que la estructura de este compuesto es muy similar a la de aquellos. El espectro de ^1H -RMN coincide con el de ambos. En lo - que respecta a su espectro de masas es practicamente idéntico al del componente 82, por lo que debe tratarse de un isómero del mismo.

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	13.0	83	18.1	167	15.2
43	21.9	91	13.3	168	38.1
55	12.4	105	9.5	183	100.0
57	8.6	152	14.3	184	20.0
81	10.5	153	29.0	198	41.0
82	11.4	165	16.2		



COMPONENTE N. 84

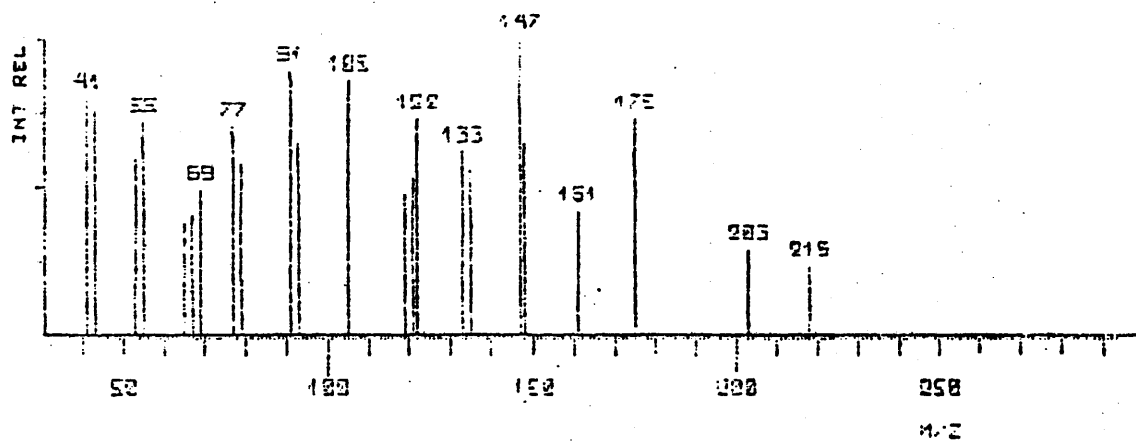
(fig. 37)

87.- Es un componente que aparece a pequeña concentración, solo en algunos aceites. Se ha registrado su espectro de masas (fig. 38) a partir de una fracción eluida por cromatografía en columna con n-hexano-éter, 85-15. Su ion molecular a m/z 218, indica que debe tratarse de un compuesto oxigenado, de fórmula elemental $C_{15}H_{22}O$, con cinco insaturaciones. La ausencia del pico $M^+ - 18$ y la presencia de algún pico par intenso, tal como el 122, sugieren que la función oxigenada sea de tipo cetónico, aunque no se puede excluir la posibilidad de alcohol.

88.- El espectro de masas de este componente, es muy semejante al del vetivenol, aunque no lo suficiente como para afirmar que se trate de este compuesto. Posiblemente posea una naturaleza similar.

89.- Se eluye por cromatografía en columna líquido-sólido en una fracción polar. Solo se dispone de su espectro de masas (fig. 39), en el cual se observa un ion molecular M^+ 218, y los primeros fragmentos $M^+ - 15$ y $M^+ - 18$, lo que indica que es un compuesto de fórmula empírica $C_{15}H_{22}O$ y posiblemente alcohol, dada su alta retención cromatográfica. No se ha encontrado información a cerca de ningún compuesto que posea un espectro de masas similar. Se ha detectado su presencia, solo en algún aceite, a muy pequeña concentración.

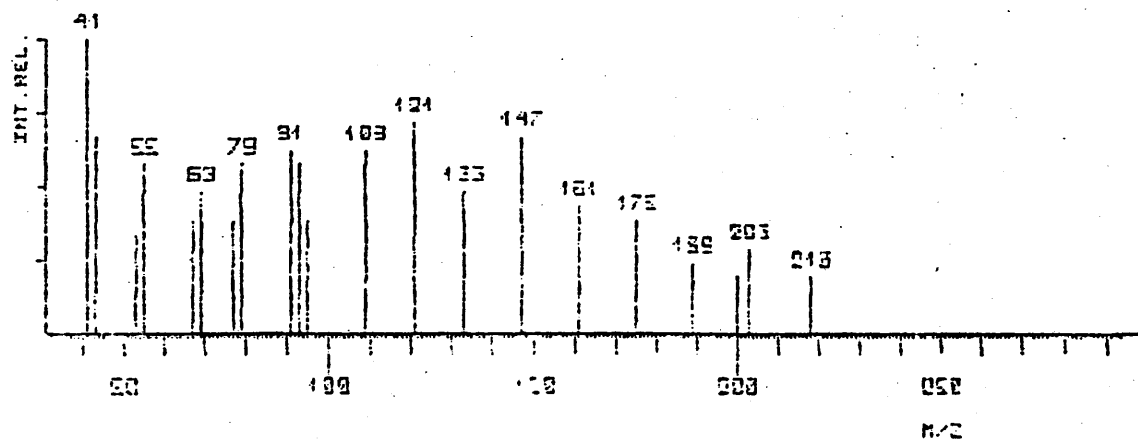
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	20.0	79	57.1	155	55.7
43	75.7	91	26.6	147	100.0
53	58.6	93	64.3	149	64.3
55	71.4	105	33.7	161	41.4
57	37.1	109	47.1	175	72.9
67	40.0	121	32.9	203	28.6
69	49.6	123	72.9	218	22.9
77	70.0	133	51.4		



COMPONENTE N. 87

(fig. 38)

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	100.0	79	57.1	147	66.7
43	66.7	91	61.9	161	42.9
53	33.3	93	57.1	175	38.1
55	57.1	95	38.1	189	23.8
67	38.1	109	51.9	203	19.0
69	47.6	121	71.4	203	28.6
77	38.1	133	47.6	218	19.0



COMPONENTE N. 89

(fig. 39)

III.2.- ANALISIS CUANTITATIVO

Los resultados del estudio analítico cualitativo y cuantitativo de los aceites, se muestran en la tabla III (Apéndice I). - Los componentes identificados aparecen a la izquierda de la tabla, ordenados por su retención cromatográfica, al igual que se hizo en el apartado III.1. En los casos en que el componente no ha podido ser identificado con seguridad, se le caracteriza para posterior - referencia con su número de orden de elución. En la parte superior de la tabla, figura la relación de muestras de plantas cuyos aceites han sido estudiados. La signatura es la misma que la indicada en la tabla I (apartado II.1), y será utilizada en lo sucesivo, en muchas ocasiones para representar al aceite a que corresponde.

La comparación visual de los cromatogramas de estos aceites, puede ofrecer una visión de conjunto de la complejidad del problema, al tiempo que resalta las semejanzas y diferencias mas aparentes entre aceites. En el apéndice II, se han representado los aceites en forma de diagrama de barras. En abscisas, se toma para cada componente su número de elución (apartado III.1) y en ordenadas - una altura proporcional a la concentración del componente.

La composición de un aceite esencial depende de muy diversos factores. Es lógico que plantas de diferentes especies botánicas produzcan diferentes aceites esenciales (lo que presenta un elevado interés taxonómico), pero incluso dentro de la misma especie pueden a veces distinguirse grupos (quimiotipos), que se diferencian por la distinta composición química de sus aceites.

Clima, localidad, época de recogida, etc., influyen también en la composición del aceite, generalmente solo de forma cuantitativa. Por último, la separación y almacenamiento del aceite, así como el propio proceso de análisis, producen también la alteración de algunos de sus componentes.

El estudio estadístico de los datos contenidos en la tabla III, no puede llevarse a cabo usando un tratamiento estadístico clásico por dos motivos:

- a) Falta de homogeneidad en los datos experimentales. Debido a la dispersión geográfica, y en ciertos casos al interés botánico de las diversas especies de Teucrium, el número de aceites estudiados de cada uno es muy variable. Mientras que de T. capitatum, especie muy abundante y de gran interés botánico, se han estudiado veintisiete muestras diferentes, en la mayoría de las demás especies, solo se han podido obtener una o dos muestras.
- b) El elevado número de componentes e interdependencia de los valores de sus concentraciones. Se han cuantificado hasta ciento dos compuestos diferentes, y es de esperar como veremos mas adelante (pag. 122), que la presencia de un compuesto, influya en la concentración de los demás.

Ante estas dificultades, hemos procedido a realizar el estudio comparativo de nuestros datos, utilizando métodos de análisis multivariable, con el fin de obtener indicaciones sobre la existencia y características de los factores que influyen en la composición del aceite.

El tratamiento matemático de los datos, se ha realizado - principalmente, utilizando el conjunto de programas ARTHUR (53). - Solo se han utilizado algunas de sus subrutinas, que se explicarán al ser aplicadas a cada caso particular. El computador utilizado - ha sido un IBM 360, del Centro de Cálculo Electrónico del C.S.I.C. El resto de los programas ha sido escrito por nosotros para su uso en dicho computador o en un Olivetti P6060.

Dado el elevado número de componentes, hemos considerado - necesario el reducirlos, eliminando de los cálculos, los componentes con menor importancia cuantitativa, o aquellos cuya concentración no presenta variaciones significativas en los aceites estudiados. Así, se obtiene una gran simplificación en los cálculos matemáticos y en la interpretación de los resultados. La información - cuantitativa que se pierde no es muy importante, y aunque en algunos casos, entre los componentes eliminados puede haber alguno típico de alguna de las especies, siempre se tratará de un compuesto presente a concentraciones tan bajas que su utilización para casos prácticos presentaría problemas.

Hemos escogido los siguientes componentes:

α -Pineno	Linalol	Isoborneol	t-Cadinol
β -Pineno	Pinocarvona	Germacrene D	Componente 81
Sabineno	Cariofileno	δ -Cadineno	Cadinol I
Componente 8	4-Terpineol	Mirtenol	Timol
Mirceno	Mirtenal	Ox.Cariofileno	Carvacrol
Limoneno	t-Pinocarveol	Nerolidol	Cadinol II
p-Cimeno	α -Humuleno	Cadinenol	
β -Bourboneno	Verbenol	Componente 78	

El primer problema que se nos presenta es la definición - de una o varias medidas de la semejanza o diferencia entre las composiciones de los aceites. Una sencilla medida de la separación entre dos puntos x_i y x_j en un espacio de n dimensiones es el valor:

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_k (x_{ik} - x_{jk})^2}$$

denominado distancia euclídea.

En nuestro caso, podemos considerar que cada aceite i es un punto en un espacio de n dimensiones (n es el número de componentes). El valor de la coordenada de cada punto sobre el eje k , - x_{ik} , es la concentración del componente k en dicho aceite.

Hemos calculado, utilizando el programa DIST de ARTHUR, la matriz de distancias entre todos los posibles pares de aceites. A continuación, hemos procedido a agrupar los aceites, considerando su distancia euclídea como una medida de su disimilaridad. El proceso de agrupación ha sido el siguiente:

1º. Se considera que en la situación original cada aceite es un - grupo. Si hay m aceites, habrá pues, m grupos.

2º. Se escogen los dos aceites que tengan una menor distancia euclídea entre sí. Estos dos aceites forman un único grupo, siendo - pues, el número de éstos $m-1$.

3º. Se recalculan en los casos necesarios, las distancias entre - grupos. En los casos de grupos que contienen dos o mas aceites, - la distancia entre ellos se toma como el valor mínimo de las distancias entre los posibles pares de aceites, cuando se escoge un aceite de cada grupo.

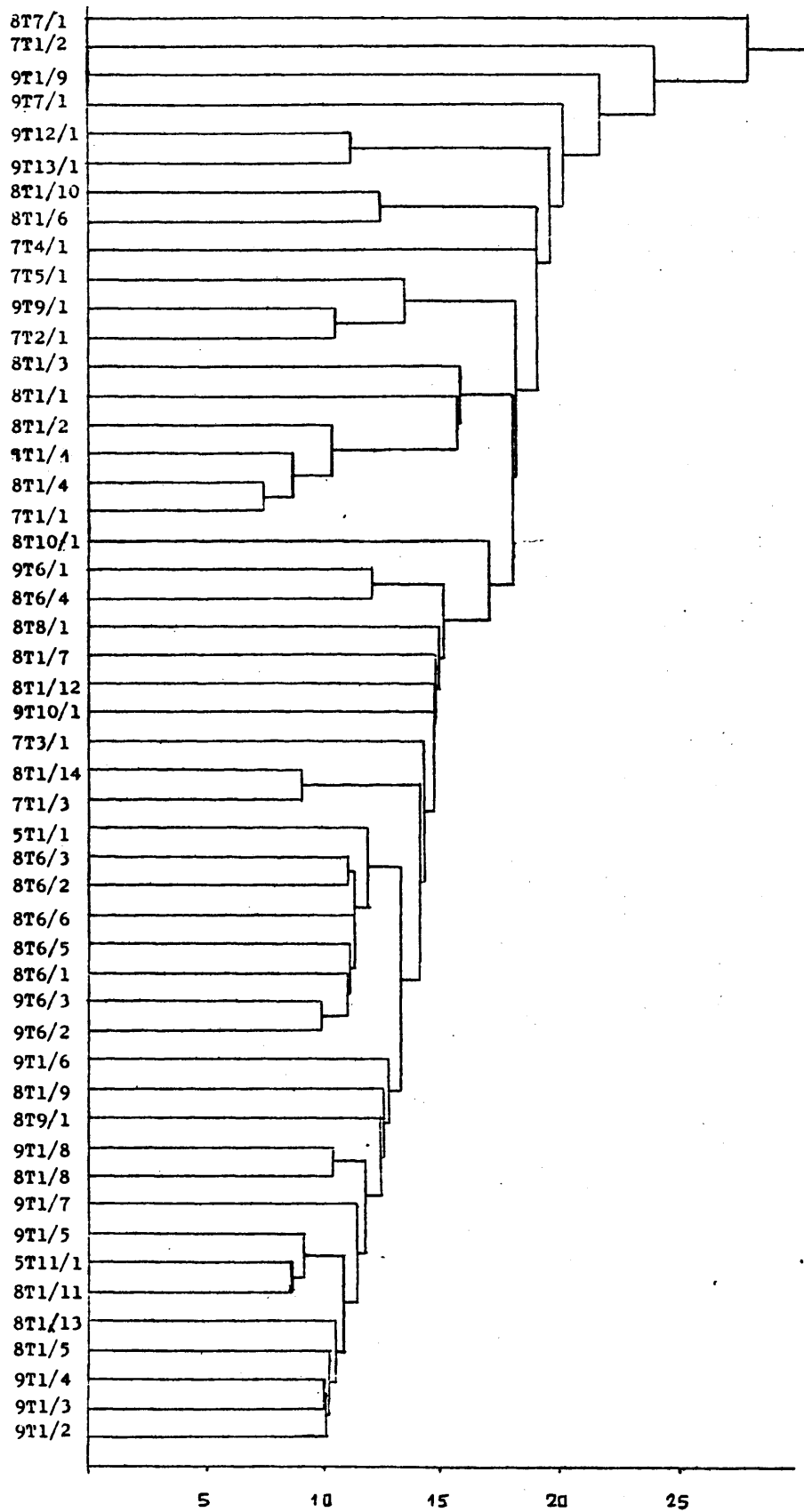
4º. Se escogen los dos grupos que presenten menor distancia entre sí. Estos dos grupos se funden en uno nuevo, reduciéndose pues, - en uno, el número total de grupos.

5º. Se repiten los pasos 3 y 4, hasta que solo quede un grupo.

El anterior método denominado método jerárquico, agrupa - preferentemente aceites con la menor distancia entre sí (mayor similitud). Sus resultados se muestran en la figura 40. En ordenadas se presentan los aceites y en abscisas los valores de las distancias. El valor a que aparece una línea vertical indica la distancia a - que se unieron los dos grupos señalados por las líneas horizontales que une.

El diagrama muestra la existencia de un complicado sistema de agrupaciones, presentándose al tiempo, grupos con muy variado - número de miembros y, aceites que tienden a quedar aislados. Es - difícil elegir un umbral de distancias que permita la separación - de grupos "naturales". Hemos escogido solo el valor 13,5 para dicho umbral.

A este nivel destaca la existencia de un grupo muy numeroso, junto con varios grupos de muy pocos componentes. El grupo grande presenta a su vez dos subgrupos. El primero de ellos incluye -



(fig. 40)

los aceites que van desde 9T1/6 hasta 9T1/2 en el diagrama, (subgrupo A) y el segundo, desde el 5T1/1 hasta el 9T6/2 (subgrupo B).

El subgrupo A está formado por catorce aceites, doce de los cuales proceden de T. capitatum, cuatro de la región levantina y el resto de la provincia de Madrid (salvo el de Yepes y el del Puerto de Almansa). Es difícil obtener una característica común a un grupo tan numeroso pues, a pesar de estar formados por el mismo tipo de componentes, su concentración varía entre ellos. Sin embargo, en general parecen coincidir en no tener ningún componente a concentración elevada (salvo el 8T1/13), con el α -pineno, β -pineno y mirceno como componentes mayoritarios, en gran parte de ellos. Sus concentraciones por lo general son inferiores al 15 %.

Una agrupación homogénea la forman los cinco aceites de la parte inferior de la tabla, tres T. capitatum de Madrid, uno de Albacete y uno de Valencia. Se podría decir que todos ellos están formados por los mismos componentes, con análogas concentraciones en los cuatro primeros aceites. El aceite de T. capitatum de Corbera, difiere en su alto contenido en cineol (36 %). Este grupo está bastante relacionado a su vez con el formado por tres aceites, inmediatamente superior en la tabla, en el que con dos T. capitatum de Madrid aparece el T. lusitanicum. Estos poseen una concentración de α -pineno, β -pineno y mirceno algo mayor que la del anterior grupo. Los dos T. capitatum recogidos en El Altet, que poseen un contenido relativamente alto en α -pineno, sabineno y cariofileno, se agrupan a su vez entre sí, antes de unirse al subgrupo, al que mas tarde se une un T. capitatum de Madrid, con la particularidad de tener una concentración de γ -muuroleno mas alta, un T. capitatum de Murcia y el T. homotricum de Corbera. Estos tres últimos poseen al β -pineno y mirceno como componentes mayoritarios.

El subgrupo B es muy homogéneo, botánicamente. Está formado por la mayoría de los T. gnaphalodes y algo mas separado el T. capitatum de Hellín. Poseen una composición química muy parecida, en especial en lo que se refiere a la concentración en β -pineno, mirtenal, t-pinocarveol, mirtenol, óxido de cariofileno, apareciendo además dos componentes característicos de este grupo: el verbenol y el número 81 (salvo en el T. capitatum).

Los restantes grupos contienen menos miembros. El formado por cuatro T. capitatum recogidos en Vaciamadrid, en diferentes épocas, presenta los mayores parecidos entre sus componentes. Estos poseen un contenido en hidrocarburos monoterpénicos no muy alto, concentración elevada de germacreno D y, presentes en todos ellos el α -muuroleno, δ -cadineno, nerolidol, t-cadinol y cadinol II a concentraciones muy similares. Se escapan dos aceites de esta localidad del grupo, el 8Tl/3 y 8Tl/1, que aún siendo de gran parecido con los anteriores tienen menor contenido en germacreno D y nerolidol.

También es grupo muy homogéneo el formado por los dos T. gnaphalodes que no se incluyeron en el subgrupo B, que poseen de singular la concentración mas elevada de α -pineno y nerolidol respectivamente.

Los aceites de T. capitatum de Morata y Arganda están muy relacionados en el diagrama. Sus componentes mayoritarios son los mismos que los de los de otros T. capitatum recogidos en otras localidades de Madrid que pertenecen al subgrupo A, aunque a mayor concentración. El germacreno D en estos dos aceites alcanza concentraciones algo mayores.

Otros dos T. capitatum de la región de Levante, los recogidos en Villena y La Cañada, presentan gran similitud. Estos se distinguen por la elevada concentración de limoneno.

Los grupos restantes parecen ser heterogéneos, sin embargo, la pareja T. aureum, T. subtriphyllum corresponde a un mismo grupo dentro de la subsect. Polium (ver división botánica en la introducción). Estos poseen un alto contenido en α -pineno, β -pineno, mirceno y limoneno. Observamos en el diagrama que el T. lusitanicum y T. subtriphyllum están muy separados. Sin embargo, tal como se ha indicado en la introducción, según Valdés Bermejo y Sánchez Crespo, estas dos especies en realidad son la misma. Esta diferencia en sus composiciones obedece con seguridad al tiempo de almacenamiento del T. lusitanicum muy superior al de T. subtriphyllum. Si se comparan sus cromatogramas (apéndice II) se observa un gran parecido en las concentraciones relativas de los componentes en ambos aceites, con menor contenido en volátiles en el T. lusitanicum.

Por otra parte, el trío T. eriocephalum, T. charidemi y T. homotricum, que poseen de común su pequeña concentración en compuestos volátiles y su alto contenido en δ -cadineno, está incluido en la subsect. Polium, pertenecientes las dos primeras especies además, a un grupo botánico con los mismos caracteres morfológicos.

Entre los aceites mas diferentes al resto, están los dos - T. pseudochamaepitys, que en efecto, pertenecen a una sección botánica diferente a la de todas las especies estudiadas. Estos, a su vez, no están relacionados en el diagrama. Sin embargo, el rendimiento en aceite de esta planta es bajísimo, por lo que la concentración de componentes volátiles asignada a estos dos aceites no es fiable. Ambos difieren además en la concentración de timol. Este -

problema se ha presentado también en otros aceites, p. ej., en el T. chamaedrys, las dos muestras recogidas parecen pertenecer a - grupos muy diferentes, sin embargo, si se comparan sus cromatogramas, el aspecto general es muy similar. La composición asignada - al aceite de T. carolipau, asimismo no es fiable por disponer de muy poca cantidad de muestra.

Cabe especial mención entre los aceites de T. capitatum - mas diferentes, los procedentes de plantas recogidas entre las localidades de Tobarra y Hellín (9Tl/9) y el de Cartagena (7Tl/2). - En el primero de ellos destaca su alto contenido en hidrocarburos monoterpénicos, en especial el β -pineno (33 %) y limoneno (18 %). En el T. capitatum de Cartagena los hidrocarburos monoterpénicos forman prácticamente la totalidad del aceite, siendo el p-cimeno (28 %) el componente fundamental.

Es lógico suponer que la ausencia o presencia (y en este - caso, la concentración) de un componente, influya sobre la concentración de los demás. En el caso mas sencillo, suponiendo que no - exista interdependencia entre componentes, dado que su concentración viene dada en porcentaje del total, sería de esperar el encontrar coeficientes de correlación, para parejas de componentes, con valores pequeños y negativos.

Hemos calculado los coeficientes de correlación para todas las parejas de componentes, mediante el programa CORREL de ARTHUR. De él se deduce que existen valores muy elevados y los mas importantes tienen signo positivo. Se han agrupado los compuestos que - presentan entre sí coeficientes de correlación elevados y positivos, de los que se puede suponer que se originan en el aceite por un - factor o serie de factores comunes, obteniendo los cuatro grupos

siguientes:

Mirtenal	Cadinenol	Componente 8	β -Bourboneno
t-Pinocarveol	Componente 78	p-Cimeno	Linalol
Mirtenol	δ -Cadineno	Sabineno	Timol
Pinocarvona	Cadinol I	4-Terpineol	
Ox. Cariofileno	Cadinol II		
Componente 81	t-Cadinol		

Es de interés que el segundo grupo está formado por compuestos de estructuras químicas similares. También debemos destacar que el germacreno D, compuesto importante en estos aceites, presenta - elevadas correlaciones negativas con los miembros del primer grupo.

La existencia de altas correlaciones entre componentes, nos indica que es posible simplificar matemáticamente los datos de composición de los aceites, sin pérdida de la información contenida en ellos. Al reducir la dimensionalidad de los datos, la interpretación de los resultados será mas fácil.

Para conseguir ésto, hemos utilizado el programa KARLOV de ARTHUR. Este programa utiliza el análisis de componentes principales, cuyo objeto es encontrar un pequeño número de combinaciones - lineales que puedan usarse para resumir los datos, perdiendo la - menor cantidad posible de información.

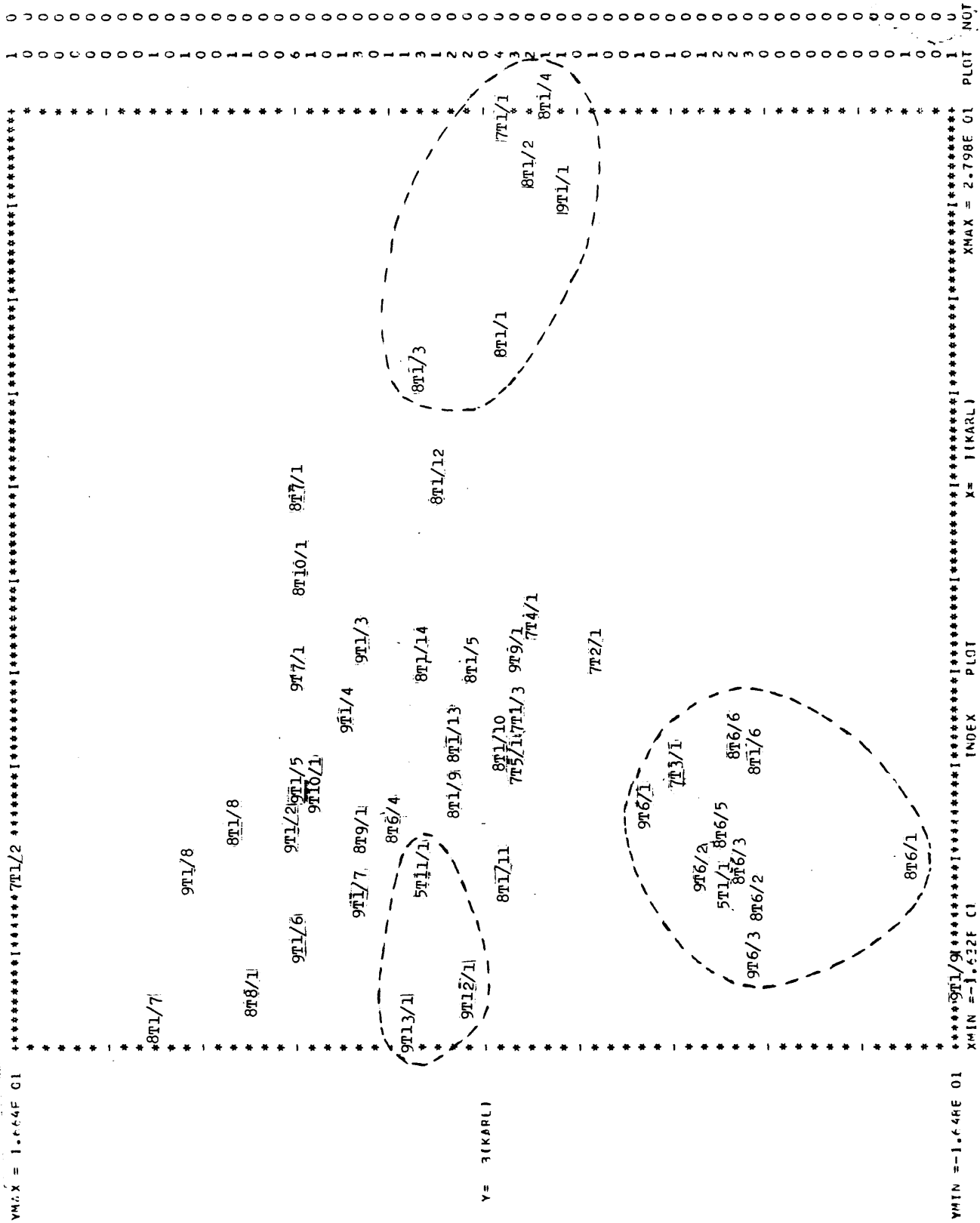
La reducción en dimensiones que se obtiene puede usarse - para representaciones gráficas. Así, si sólo usando dos componentes se explica con suficiente exactitud nuestros datos, un diagrama en que éstos se representen, tomando como ejes de coordenadas - esos dos componentes, proporcionará una representación fiel de su

distribución. En el caso mas general, tomando como ejes dos de los primeros componentes principales, la representación será mas adecuada que tomando dos de los componentes originales.

KARLOV genera para cada aceite un nuevo grupo de coordenadas, que son combinación lineal de las antiguas (los porcentajes de componentes). Al aplicar el KARLOV se observa que con doce componentes se puede explicar el 95% de la varianza y, que con veinticinco se explica practicamente el 100%.

Para representar en un plano los aceites, hemos utilizado el programa VARVAR de ARTHUR. Los ejes de coordenadas pueden ser cualquier variable en este programa, aunque para nuestro caso hemos utilizado preferentemente los componentes principales generados por KARLOV. VARVAR es simplemente un modo de proyectar los datos sobre un plano, es decir un modo de verlos. Las representaciones que usan los diferentes componentes principales, son distintas "vistas" de los aceites.

En nuestro caso, hemos elegido los pares de componentes 1,3 y 2,3 (figuras 41 y 42). En la 41 se observa la amplia distribución de los T. capitatum. Puede distinguirse un núcleo central alrededor del cual se agrupa la mayoría, y un grupo mas separado (muestras procedentes de Vaciamadrid). El grupo central parece coincidir con las muestras recogidas en la región central de la península, mientras que los procedentes de la periferia se encuentran mas dispersos (Albacete, región levantina). También se observa claramente en ambas representaciones, un grupo formado por la mayor parte de los T. gnaphalodes. El T. aureum y T. subtriphyllum, salen juntos en los dos diagramas. Observamos en la figura 41, que el T. lusitanicum aparece no muy distante de los anteriores. El hecho



(fig. 41)

$$Y = \{ (KAPL) \}$$

XMIN = 2.004E 00

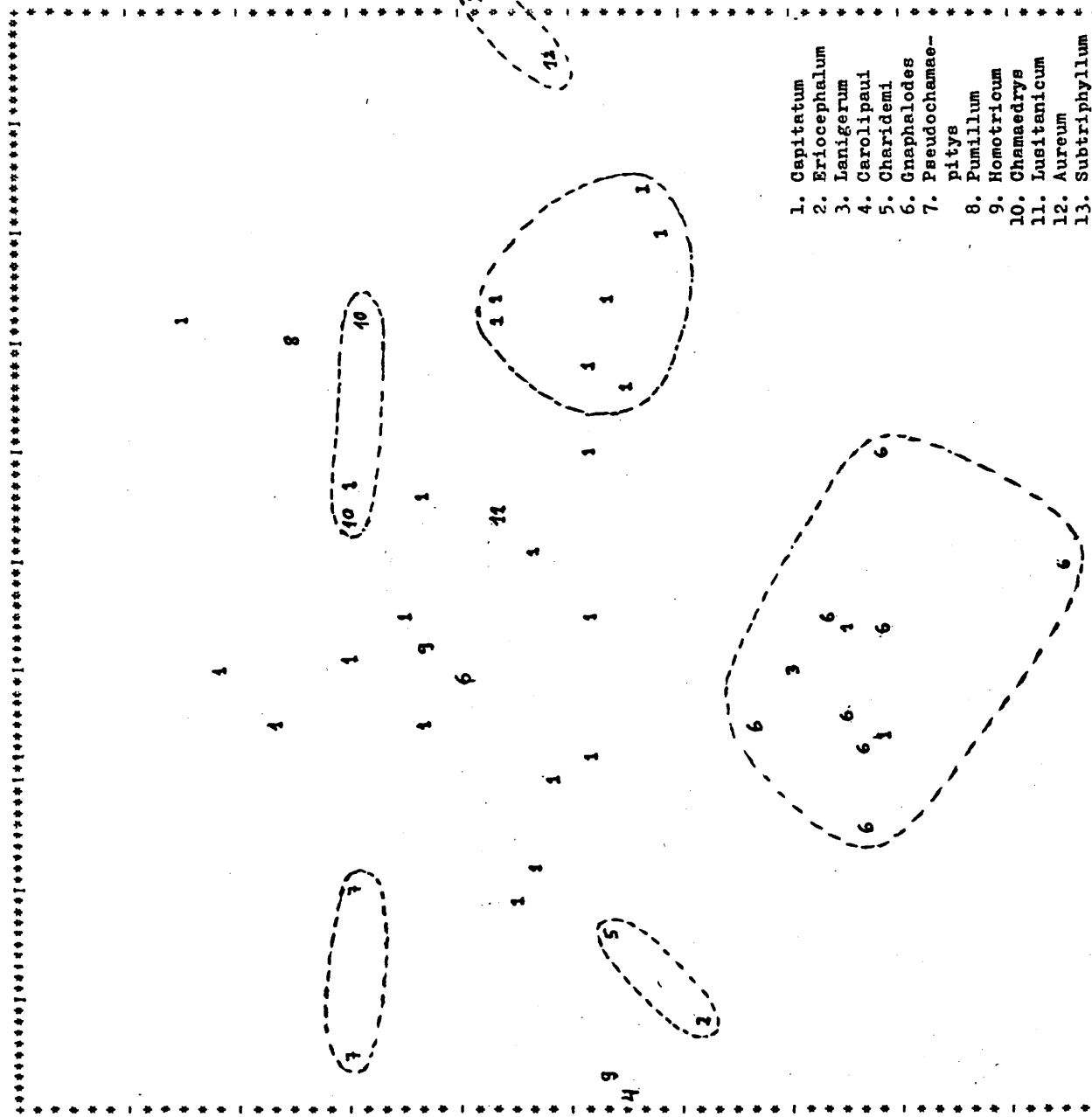
**WITH A FOREWORD BY
CAROL COHEN**

1742

XMAX = 1,319E 01

NET
0

(Fig. 42)



de no salir mas unido al T. subtriphyllum (misma especie botánica) puede deberse como hemos señalado anteriormente, a alteraciones sufridas durante el almacenamiento. Estas especies (5T11/1, 9T12/1 y 9T13/1) junto al T. capitatum (repartidos alrededor del T. lusitanicum) forman un grupo muy homogéneo botanicamente, pues además de pertenecer a la misma subsect. botánica (Polium), poseen también - análogos caracteres morfológicos. Otra agrupación muy homogénea - botanicamente, la forman el T. charidemi, T. lanigerum y T. eriocephalum que pertenecen asimismo a la subsect. Polium pero, además con caracteres morfológicos análogos entre sí. Estos, aunque no - están muy próximos, en el diagrama de la figura 41 se observa que forman un grupo, entre los T. capitatum y los T. gnaphalodes.

El empleo de diagramas jerárquicos, como el de la figura 40, permite visualizar en conjunto las agrupaciones de los aceites, - pero no nos informa sobre su estructura interna. Por este motivo, nos ha parecido interesante combinar la información numérica de - las distancias entre aceites con la gráfica obtenida en las representaciones de VARVAR.

El proceso seguido ha sido la unión de las parejas de aceites cuya distancia fuera inferior a un cierto valor. En la figura - 43, con línea continua se indican las parejas de aceites cuya distancia es inferior a 11, y con línea de puntos aquellas cuya distancia es inferior a 12. Los grupos que se observan son los mismos que aparecieron en el diagrama jerárquico a dichos niveles. Ahora, puede observarse que los cuatro T. capitatum (1) y sobre todo, los seis T. gnaphalodes (6) forman grupos muy compactos, mientras que los demás T. capitatum forman grupos mas abiertos. Obsérvese que en los diagramas los números asignados a los diferentes aceites corresponden a - los de su especie botánica.

YMAX = 1.644E 01

$$Y = \mathfrak{Z}(K \wedge RL)$$

YMIN 3-1.64AF 0J

MIN - 1.62E C1

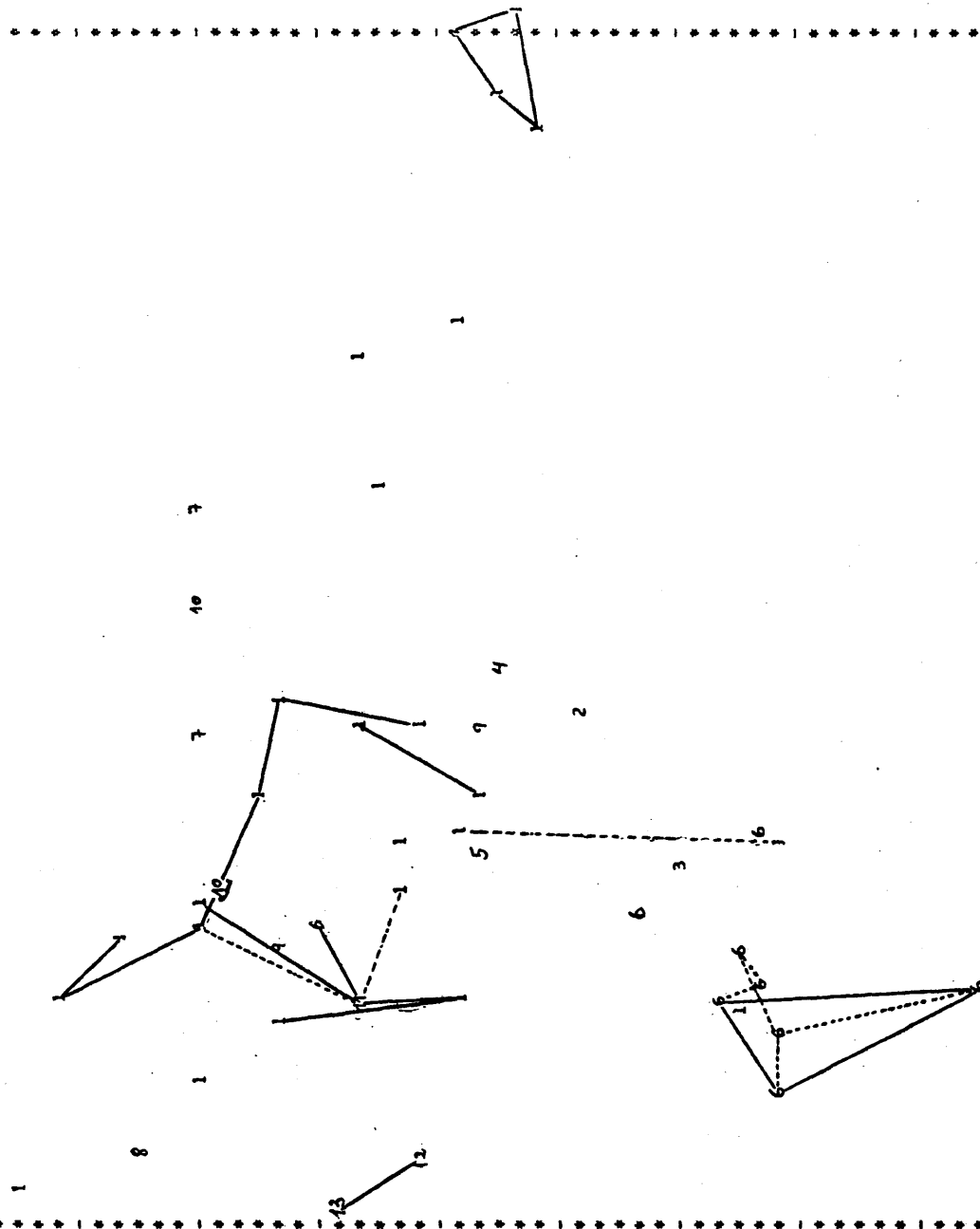
CATEGORY PLOT

X= I(KAKL)

XMAX = 2.798E 01 PL

NOT

(Fig. 43)



En la figura 41 se observa que la mayor parte de los aceites de T. gnaphalodes, así como los dos T. capitatum de Albacete, - tienen poco contenido de componentes 1 y 3 de KARLOV, de lo que se deduce que son aceites que poseen a pequeña concentración el germacreno D, δ -cadineno, α -pineno, p-cimeno, sabineno y mirceno.

Los aceites de T. capitatum de Vaciamadrid se distinguen - por su alto contenido en componente 1 de KARLOV, es decir que poseen gran proporción de germacreno D y δ -cadineno, siendo los compuestos que menos influyen en su composición el α -pineno y β -pineno. Se observa asimismo que los aceites de T. capitatum de la región levantina, se caracterizan por su gran contenido de componente 3 y pequeña proporción de componente 1. De esto se deduce que el germacreno D y δ -cadineno son poco influyentes en la composición de estos aceites, mientras que el α -pineno, p-cimeno, sabineno y mirceno son los componentes mas importantes.

Los aceites de T. aureum 12, subtriphyllum, 13 y lusitanicum 11 poseen en común su contenido medio en componente 3 y pequeña proporción del 1.

No se pueden sacar deducciones tan concluyentes del resto de los aceites, pues la mayoría de ellos poseen un contenido medio de ambos componentes.

Las representaciones gráficas obtenidas mediante el uso - del VARVAR pueden considerarse como la proyección en un plano de - una nube de puntos en un espacio de n dimensiones, siendo los puntos los aceites y las dimensiones los componentes. Si en esta proyección se observa que aceites de determinados grupos botánicos o determinadas localidades tienden a agruparse, de forma que en cier-

tos casos se separa mediante una recta del resto de los aceites - en el plano, es lógico suponer que esta separación sera más facil en el espacio de n dimensiones, utilizando para la separación un hiperplano. PLANE, (otro programa de ARTHUR) calcula mediante iteraciones un hiperplano que separa dos categorías en que se ha debido dividir previamente los datos. MULTI, mediante un proceso similar, calcula unos hiperplanos que en este caso separan cada categoría de todas las demás.

PLANE admite solo dos categorías, y no tiene sentido aplicarlo a los casos en que solo se dispone de una muestra por especie. Por eso hemos agrupado los datos en tres categorías: 1) T. capitatum 3) T. gnaphalodes, 2) Resto de las especies, y calculado los hiperplanos de separación para las posibles parejas de categorías.

La separación entre T. capitatum y T. gnaphalodes es correcta en el 100 % de los casos (pag.131). A partir del vector de peso se pueden conocer cuales son los componentes que mas influyen en esta particular separación, y que resultan ser por orden de importancia:

Propios de <u>T. capitatum</u>	Propios de <u>T. gnaphalodes</u>
Germacreno D.	Componente 81
Limoneno	Verbenol
Mirceno	Cariofileno
α -Pineno	Pinocarvona

En la página 132 figuran los resultados del PLANE que separa T. capitatum del resto de las especies, excluyendo los T. gnaphalodes. La separación es también correcta al 100 %. En este caso, - los componentes propios de cada categoría son los siguientes:

 MAJOR PASS 1 2 3
 NUMBER OF MINOR PASSES 2 1 1
 PERCENT RIGHT 97.2222 100.0000 100.0000

 PLANE SEPARATED CLASS 1 FROM CLASS 3 IN 8 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS
 -6.0514E-01 4.7458E-01 2.2627E-01 4.6473E-01 -6.4292E-01 -3.6229E-01 3.0346E-01 -2.6886E-01 4.9292E-01
 5.2500E-01 3.2776E-01 3.3767E-01 1.2335E-01 3.7616E-01 5.7025E-01 4.5257E-01 -1.5889E-01 2.4884E-01 1.1955E-01
 3.4014E-01 3.7738E-01 5.0000E-01 -1.8504E-01 -1.6700E-02 3.4330E-01 2.4588E-01 4.0334E-01 4.1435E-02 3.3280E-01
 3.8025E-01

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR

PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT	PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
1	5T1 #1	1.	-3.2244E-01	32	8T6 #1	3.	1.2155E 01
2	7T1 #1	1.	-5.4187E 01	33	8T6 #2	3.	1.0193E 01
3	7T1 #2	1.	-1.8053E 01	34	8T6 #3	3.	1.4309E 01
4	7T1 #3	1.	-2.1608E 01	35	8T6 #4	3.	1.1614E 00
5	8T1 #1	1.	-3.3662E 01	36	8T6 #5	3.	1.7163E 01
6	8T1 #2	1.	-4.3591E 01	37	8T6 #6	3.	1.9670E 01
7	8T1 #3	1.	-4.0713E 01	38	9T6 #1	3.	1.2315E 01
8	8T1 #4	1.	-6.0404E 01	39	9T6 #2	3.	1.2499E 01
9	9T1 #5	1.	-1.1581E 01	40	9T6 #3	3.	1.1080E 01
10	8T1 #6	1.	-1.4819E 01				
11	8T1 #7	1.	-1.4526E 01				
12	8T1 #8	1.	-3.6091E 00				
13	8T1 #9	1.	-3.8524E 00				
14	8T1 #10	1.	-2.2301E 01				
15	8T1 #11	1.	-1.3169E 01				
16	8T1 #12	1.	-1.3704E 01				
17	8T1 #13	1.	-1.5712E 00				
18	8T1 #14	1.	-2.5212E 01				
19	9T1 #1	1.	-5.1156E 01				
20	9T1 #2	1.	-7.5797E 00				
21	9T1 #3	1.	-1.6049E 01				
22	9T1 #4	1.	-1.4701E 01				
23	9T1 #5	1.	-2.1507E 01				
24	9T1 #6	1.	-6.4611E-01				
25	9T1 #7	1.	-8.1011E 00				
26	9T1 #8	1.	-1.1776E 01				
27	9T1 #9	1.	-6.4439E 00				

WHICH IS 100.00 PERCENT CORRECT

NAME	NUMBER	PERCENT
1	30	95.0000
2	30	95.0000
3	40	100.0000
4	40	100.0000

PLEASE SEPARATE CLASS 1 FROM CLASS 2 IN 13 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS

5.6075E-01	-1.8679E-01	-5.4873E-01	4.5471E-01	-1.9009E-01	-4.8115E-01	-5.6274E-01	2.6115E-01	-4.1827E-01	1.46673E-02
1.4010E-00	-2.6514E-01	-2.9510E-01	-0.0557E-01	5.8863E-01	-3.1250E-01	4.3361E-01	-9.0650E-01	3.2990E-01	-3.0670E-01
3.7011E-01	4.5134E-01	5.0000E-01	-1.0900E-01	2.9153E-01	5.0000E-01	2.1242E-01	3.6159E-01	-1.8265E-01	4.9894E-01
3.2042E-01									

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR							
PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT	PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
1	5T1 #1	1.	-1.7292E 01	23	7T2 #1	2.	1.9787E 01
2	7T1 #1	1.	-2.6151E 01	24	7T3 #1	2.	1.6993E 01
3	7T1 #2	1.	-7.1071E 00	31	7T5 #1	2.	5.7120E 00
4	7T1 #4	1.	-1.8925E 00	41	8T7 #1	2.	1.8926E 00
5	9T1 #1	1.	-1.3391E 01	42	9T7 #1	2.	4.0224E 00
6	9T1 #2	1.	-1.4472E 01	43	8T8 #1	2.	2.1784E 01
7	8T1 #1	1.	-1.1074E 01	44	8T9 #1	2.	1.3770E 01
8	8T1 #4	1.	-3.0768E 01	45	9T9 #1	2.	1.7034E 01
9	9T1 #5	1.	-5.1664E 00	46	8T1 0#1	2.	6.6429E 00
10	8T1 #5	1.	-2.4117E 01	47	9T1 0#1	2.	7.4735E 00
11	8T1 #7	1.	-3.1675E 00	48	5T1 1#1	2.	2.6966E 00
12	8T1 #8	1.	-1.2897E 01	49	9T1 2#1	2.	6.8823E 00
13	8T1 #9	1.	-4.0534E 00	50	9T1 3#1	2.	4.0877E 01

WHICH IS 100.00 PERCENT CORRECT

***** 3 *****

NAME	NUMBER	PERCENT	RIGHT
1	21	95.4545	
2	21	95.4545	
3	22	100.0000	
4	22	100.0000	

PLANE SEPARATION CLASS 2 FROM CLASS 3 IN 12 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS

NAME	NUMBER	PERCENT	RIGHT
1.0477E-01	2.1517E-01	5.0000E-01	1.6678E-02
2.8357E-01	4.8193E-01	2.1255E-01	2.8193E-01
4.2321E-01	7.0448E-02	2.5216E-01	4.3421E-01
3.2770E-01			

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR

PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
24	712 #1	2.	-4.1775E 01
25	713 #1	2.	-1.2715E 01
31	715 #1	2.	-3.3521E 01
41	817 #1	2.	-2.1211E 01
42	917 #1	2.	-5.6568E 00
42	819 #1	2.	-1.2222E 01
44	813 #1	2.	-4.8546E 00
45	912 #1	2.	-4.1955E 01
46	811 0#1	2.	-4.2078E 00
47	911 0#1	2.	-4.6449E 00
48	511 1#1	2.	-6.6529E-01
49	711 2#1	2.	-7.1411E-01
50	811 #1	2.	-1.9021E-01

WHICH IS 100.00 PERCENT CORRECT

T. capitatum
 Germacreno D
 t-pinocarveol
 p-cimeno
 Limoneno

Resto
 Cariofileno
 α -Pineno
 α -Humuleno
 Cadinenol

Por último, entre los T. gnaphalodes y el resto de especies, excluido el T. capitatum, se ha obtenido también separación correcta en el 100 % de los casos (pag. 133). Los aceites mas similares a los procedentes de T. gnaphalodes son los que se obtienen de T. lusitanicum, aureum y subtriphyllum. El T. gnaphalodes menos típico es el de Albacete (8T6/4), que también resultaba serlo al comparar con los T. capitatum. En cuanto a los componentes propios de cada categoría, son los siguientes:

T. gnaphalodes
 Componente 81
 Mirtenol
 Pinocarvona

Resto
 δ -Cadineno
 α -Cadinol II
 Timol
 t-cadinol

Dados los resultados obtenidos en la clasificación (100 % - correcta en los tres casos), intentamos separar al tiempo las tres categorías usando MULTI. Los resultados figuran en la página 135. La clasificación es correcta en el 100 % de los casos. Asimismo podemos utilizar los vectores de peso para saber cuales son los componentes mas representativos y menos, de cada categoría. Para el T. capitatum obtenemos:

Mas representativos: Mirceno, Sabineno, p-Cimeno, Limoneno, Germacreno D.

Menos representativos: Cariofileno, Timol, β -Bourboneno.

2	1.048E-01	1.574E-01	1.702E-01	1.000E-01	1.140E-01	6.539E-01	1.427E-01	1.312E-01	4.290E-01	4.240E-01
	1.074E-01	1.107E-01	2.415E-01	1.270E-01	4.728E-01	2.417E-01	7.058E-01	-3.170E-01	7.401E-01	2.447E-01
	4.007E-01	4.007E-01	5.414E-01	4.674E-01	5.007E-01	3.450E-01	4.745E-01	1.281E-01	1.954E-01	7.557E-01
	4.044E-01									
3	2.448E-01	1.045E-01	4.477E-01	1.000E-01	4.406E-01	-2.760E-01	7.077E-01	3.992E-01	7.798E-01	7.174E-01
	4.024E-01	4.044E-01	2.448E-01	1.000E-01	3.349E-01	2.936E-01	4.697E-01	6.545E-01	5.345E-01	3.859E-01
	4.744E-01	4.744E-01	5.000E-01	3.071E-01	2.221E-01	9.238E-01	3.217E-01	4.575E-01	2.389E-01	4.920E-01
	4.744E-01									

MY INDEX	YOUR INDEX	NAME	CATEGORY TRUE	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT
1	1	ATI 01	1	1	1	5.207E 01	2	3.635E 01	3	3.469E 01			
2	2	ATI 02	1	1	1	6.577E 01	2	1.568E 01	3	4.445E 01			
3	3	ATI 03	1	1	1	5.374E 01	2	2.877E 01	3	1.700E 01			
4	4	ATI 04	1	1	1	5.391E 01	2	4.349E 01	3	4.525E 01			
5	5	ATI 05	1	1	1	5.308E 01	2	2.656E 01	3	3.244E 01			
6	6	ATI 06	1	1	1	5.751E 01	2	1.898E 01	3	4.771E 01			
7	7	ATI 07	1	1	1	4.557E 01	2	2.928E 01	3	4.655E 01			
8	8	ATI 08	1	1	1	6.852E 01	2	1.403E 01	3	5.040E 01			
9	9	ATI 09	1	1	1	4.623E 01	2	2.761E 01	3	2.616E 01			
10	10	ATI 10	1	1	1	6.036E 01	2	3.253E 01	3	2.344E 01			
11	11	ATI 11	1	1	1	5.199E 01	2	4.620E 01	3	3.431E 01			
12	12	ATI 12	1	1	1	5.504E 01	2	2.046E 01	3	2.855E 01			
13	13	ATI 13	1	1	1	4.356E 01	2	3.762E 01	3	4.347E 01			
14	14	ATI 14	1	1	1	6.808E 01	2	3.410E 01	3	1.441E 01			
15	15	ATI 15	1	1	1	4.153E 01	2	3.705E 01	3	2.142E 01			
16	16	ATI 16	1	1	1	4.647E 01	2	2.978E 01	3	3.345E 01			
17	17	ATI 17	1	1	1	3.185E 01	2	2.083E 01	3	1.734E 01			
18	18	ATI 18	1	1	1	6.124E 01	2	3.671E 01	3	3.454E 01			
19	19	ATI 19	1	1	1	5.585E 01	2	1.734E 01	3	4.671E 01			
20	20	ATI 20	1	1	1	5.726E 01	2	3.827E 01	3	2.422E 01			
21	21	ATI 21	1	1	1	5.091E 01	2	3.182E 01	3	3.447E 01			
22	22	ATI 22	1	1	1	4.928E 01	2	3.559E 01	3	1.473E 01			
23	23	ATI 23	1	1	1	2.748E 01	2	1.174E 01	3	2.377E 01			
24	24	ATI 24	1	1	1	4.848E 01	2	3.766E 01	3	2.942E 01			
25	25	ATI 25	1	1	1	4.756E 01	2	4.720E 01	3	4.334E 01			
26	26	ATI 26	1	1	1	5.547E 01	2	3.167E 01	3	2.416E 01			
27	27	ATI 27	1	1	1	4.838E 01	2	4.474E 01	3	4.448E 01			
28	28	ATI 28	2	2	1	2.766E 01	2	4.915E 01	3	4.145E 01			
29	29	ATI 29	2	2	1	2.887E 01	2	4.733E 01	3	4.035E 01			
30	30	ATI 30	2	2	1	2.637E 01	2	4.027E 01	3	3.446E 01			
31	31	ATI 31	2	2	1	2.056E 01	2	5.957E 01	3	2.552E 01			
32	32	ATI 32	2	2	1	2.564E 01	2	4.960E 01	3	2.341E 01			
33	33	ATI 33	2	2	1	2.266E 01	2	5.677E 01	3	3.712E 01			
34	34	ATI 34	2	2	1	2.755E 01	2	4.698E 01	3	2.953E 01			
35	35	ATI 35	2	2	1	2.740E 01	2	4.150E 01	3	1.610E 01			
36	36	ATI 36	2	2	1	1.526E 01	2	4.127E 01	3	1.933E 01			
37	37	ATI 37	2	2	1	1.229E 01	2	4.957E 01	3	4.154E 01			
38	38	ATI 38	2	2	1	1.597E 01	2	3.714E 01	3	2.479E 01			
39	39	ATI 39	2	2	1	4.017E 01	2	4.924E 01	3	4.345E 01			
40	40	ATI 40	2	2	1	5.187E 01	2	5.205E 01	3	3.418E 01			
41	41	ATI 41	3	3	1	3.310E 01	2	2.758E 01	3	5.031E 01			
42	42	ATI 42	3	3	1	2.715E 01	2	2.787E 01	3	4.428E 01			
43	43	ATI 43	3	3	1	1.403E 01	2	3.467E 01	3	4.815E 01			
44	44	ATI 44	3	3	1	1.525E 01	2	3.234E 01	3	1.271E 01			
45	45	ATI 45	3	3	1	2.623E 01	2	3.478E 01	3	4.789E 01			
46	46	ATI 46	3	3	1	1.713E 01	2	3.368E 01	3	4.893E 01			
47	47	ATI 47	3	3	1	1.604E 01	2	1.824E 01	3	4.718E 01			
48	48	ATI 48	3	3	1	2.676E 01	2	3.984E 01	3	4.635E 01			
49	49	ATI 49	3	3	1	2.355E 01	2	3.933E 01	3	4.457E 01			

WHICH IS 100.00 PERCENT CORRECT
WELL, I-11 WE D/M/RE,AIN-T THAT PRETTY

Y para el T. gnaphalodes:

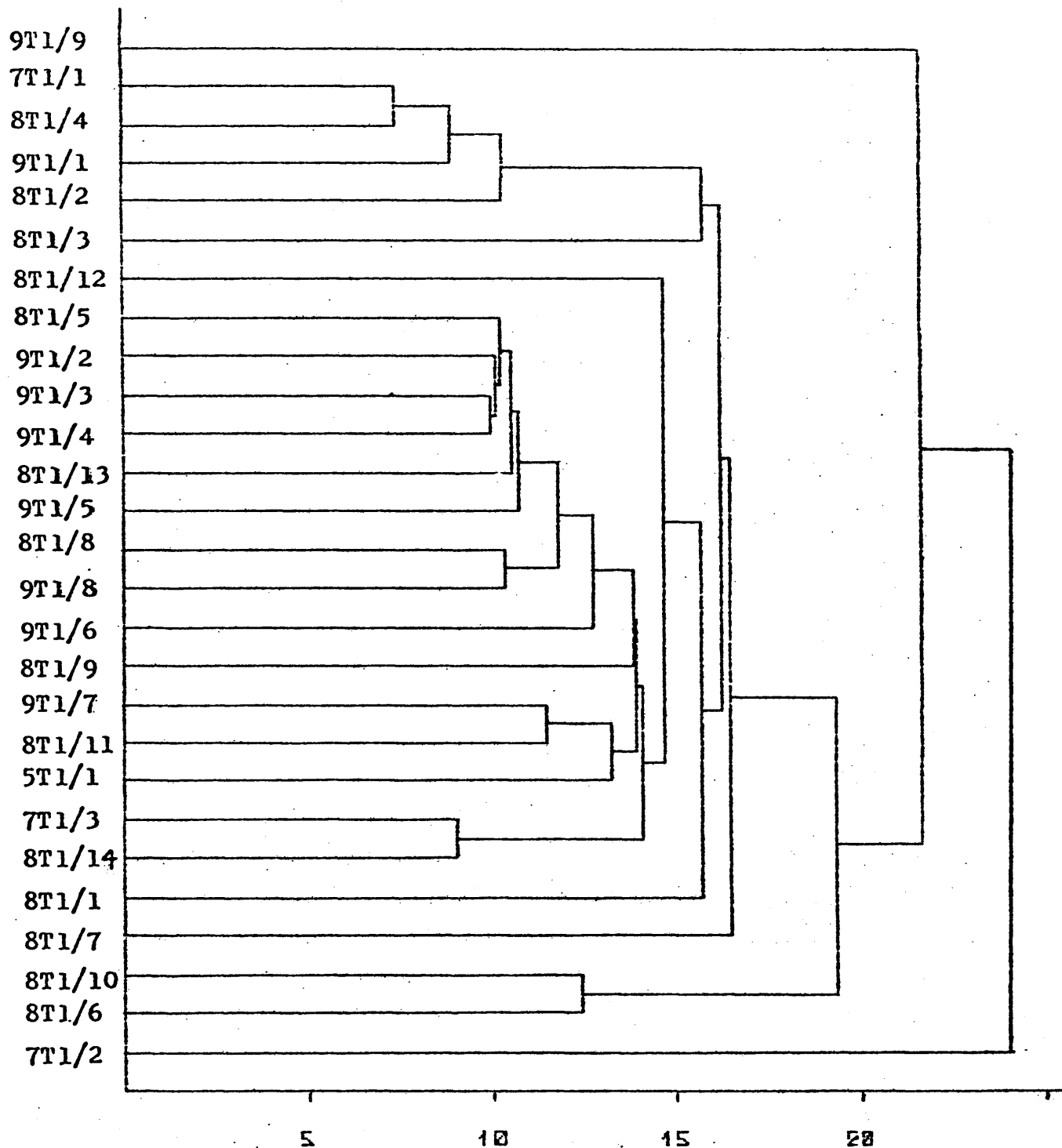
Mas representativos: β -Pineno, Verbenol, Componente 81.

Menos representativos: Limoneno, Mirceno, p-Cimeno.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en VARVAR, - PLANE y MULTI, en cuanto a la composición de los aceites se podría sacar como conclusión que los componentes que mas caracterizan a los T. capitatum son: mirceno, sabineno, p-cimeno, limoneno, germa-creno D y δ -cadineno. Estos mismos compuestos son los de menor importancia en los T. gnaphalodes, mientras que los que mejor representan a éstos son: el componente 81, verbenol, cariofileno, pinocarvona, mirtenol y β -pineno. Del resto de las especies son característicos, aparte del δ -cadineno (T. eriocephalum, carolipaui, charidemi, homotricum) que lo es asimismo del T. capitatum, y del cariofileno - (T. eriocephalum, lanigerum) del T. gnaphalodes, el α -pineno (la mayoría de ellos), α -humuleno (T. chamaedrys), α -cadinol II (T. eriocephalum, lanigerum), timol (T. pseudochamaepitys), t-cadinol (T. eriocephalum, carolipaui).

El número de muestras estudiadas procedentes del T. capitatum es superior al del resto. Esto se debe, como se indicó anteriormente, a la amplia distribución geográfica de esta especie y al interés que presenta desde el punto de vista botánico. Utilizando las veintisiete muestras de que disponemos, hemos realizado una serie de cálculos similares a los llevados a cabo con las cincuenta muestras, empleando los mismos programas.

No es necesario calcular de nuevo la matriz de distancias, pues puede obtenerse de la producida por DIST con las cincuenta muestras. Al igual que en aquel caso se ha obtenido un diagrama jerárquico, que se representa en la figura 44.



A la distancia de 11 unidades se distinguen cuatro grupos: Uno de ellos lo forman los cuatro aceites que van desde el 7Tl/1 - al 8Tl/2, todos ellos de Vaciamadrid. El grupo mas numeroso está - formado por los aceites comprendidos entre el 8Tl/5 y el 9Tl/5 - (grupo A). En éste, se relacionan primero tres aceites de Madrid, y luego se unen a este grupo otros tres de Madrid, Valencia y Albacete. Existen también a ese nivel dos parejas. La primera la forman el 7Tl/3 y el 8Tl/14, procedentes de localidades próximas de Madrid, y la segunda los dos aceites recogidos en El Altet (Valencia).

A distancias superiores aparecen dos nuevos grupos. Uno de ellos, formado por T. capitatum de Albacete, Madrid y Toledo (estos dos últimos con mayor similaridad) que se une al grupo A, al igual que el grupo del Altet y otros aceites aislados. El otro lo forman aceites de Valencia y Alicante.

A distancias mayores se van agregando el resto de los aceites y ampliandose los grupos, resultando los aceites de Cartagena y Tobarra-Hellín, los mas diferentes.

Al igual que con todos los aceites, hemos procedido a aplicar el programa KARLOV para poder hacer una representación gráfica mediante VARVAR. Al ser la muestra mas homogénea, se necesitan menos componentes. Así, para explicar el 96 % de la varianza bastan nueve componentes, y con veintidos se consigue practicamente el 100%.

Eligiendo como ejes de coordenadas los componentes 1,2 y - 1,3 se han representado los T. capitatum usando VARVAR. Los resultados aparecen en las figuras 45 y 46.

Los diferentes aceites, en la figura 45 quedan agrupados -

$$Y_{MAX} = 1.044F \text{ OI}$$

Y= ?(KARL)

YMIN = -2.612E 01

XMIN = -1.15AF CI

INDEX PL. 117

$$X = \{ (K, P_L) \}$$

$\log_{10} \frac{Y}{X} = 1.769$

מלך המלכות

(Plg. 45)

$$Y^{\text{MAX}} = 2.397\bar{5} \text{ 03}$$

[2] Vaciamadrid

③ R. levantina

1 Restantes

$$Y = \{ \lambda \in \mathbb{R}^n \mid \lambda_i = 0 \text{ for } i \in I \}$$

00-36881-1, PAGE 00

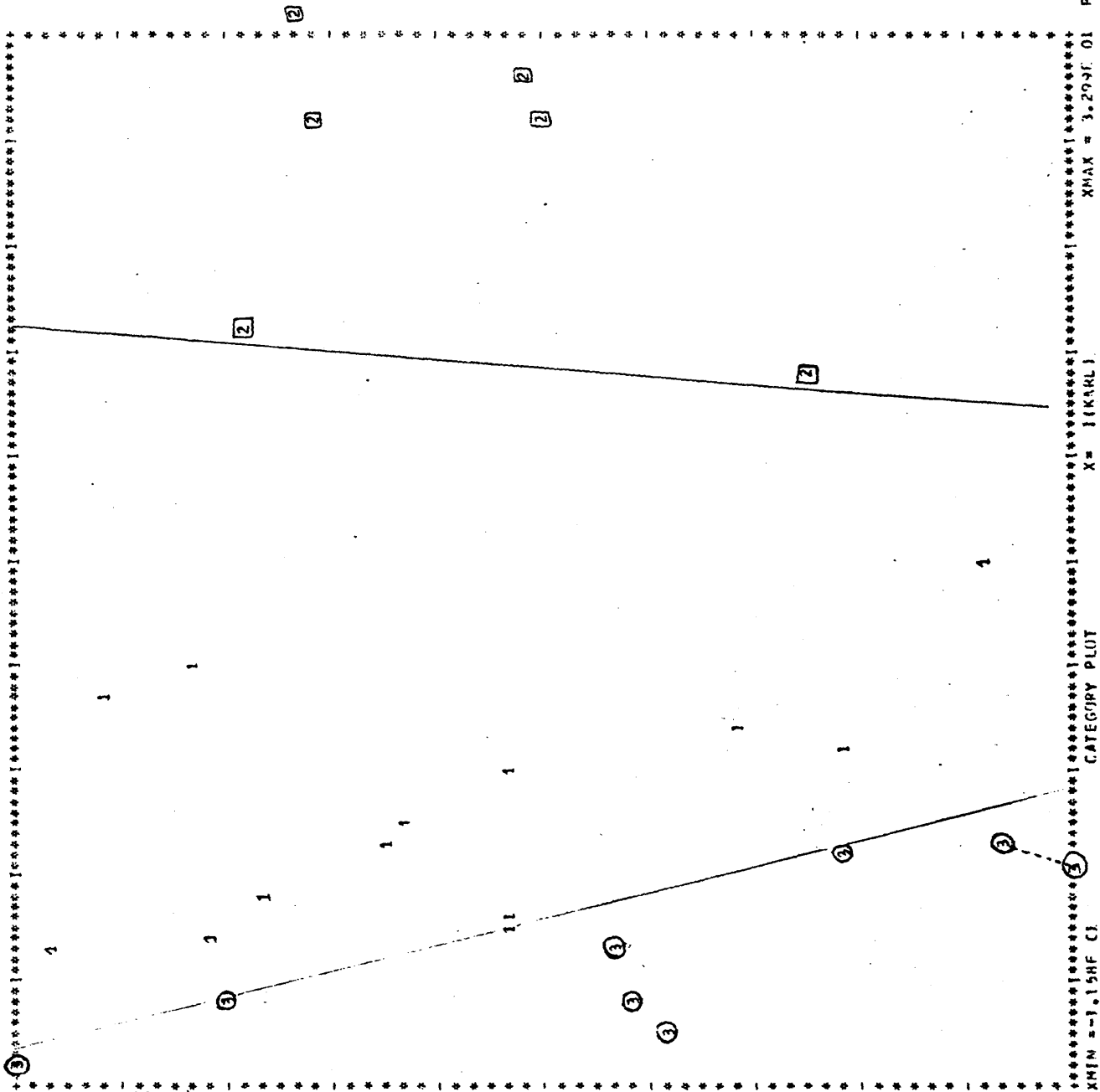
XMIN = 1.15HF (1).

CATEGORY PLDT

X = 11KRL

XMAX = 3.294E 01

PLNT NOT



(Fig. 46)

de la siguiente manera: a la derecha de la tabla aparecen los T. capitatum de Vaciamadrid. Otro grupo está formado por cuatro de la región levantina (Valencia, Murcia y dos de Alicante). Un grupo mas numeroso se forma con una muestra de Toledo, cuatro de Madrid de localidades próximas y una de Albacete y Valencia. Alrededor de este grupo se sitúan, muy cerca, tres muestras de Madrid y algo mas alejadas otra de Albacete y la de Cuenca.

Parecen por lo tanto observarse tres grupos, formados respectivamente por los T. capitatum de Vaciamadrid, interior de la península y región levantina. Para comprobar esta hipótesis, hemos representado en primer lugar nuestros puntos utilizando un nuevo sistema de ejes de coordenadas calculado por NLM (otro programa de ARTHUR). Este programa pretende representar los datos sobre un plano, de forma que la diferencia entre sus distancias en el plano y sus distancias reales (calculadas en DIST) sean lo menor posible.

En este diagrama (fig. 47) se observa un grupo compacto formado por cuatro T. capitatum de Vaciamadrid. Los otros de aceites de Vaciamadrid, que se encuentran ligeramente separados de los anteriores, corresponden uno a una muestra recogida en mayo (el resto se recogió en Junio o Julio), y el otro procede de una planta extraída en verde.

El resto de aceites se agrupa de forma mas abierta, y aunque se pueda hablar de que los aceites recogidos en la provincia de Madrid u otras provincias interiores se encuentran agrupados entre sí, y los de la región levantina forman un grupo alrededor suyo, existen uniones entre miembros de una y otra categoría.

Otro tipo de relación que parece observarse es la similitud

$$Y_{MAX} = 2.491E 01$$

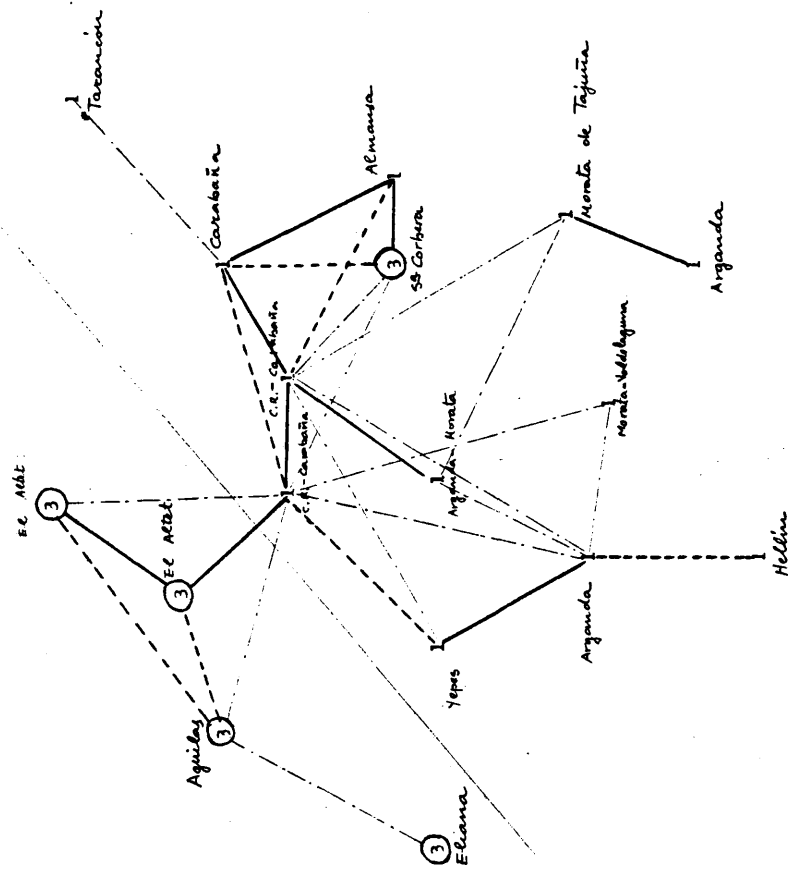
[2] vaciamadrid

③ R. Levantina

1 Restantes

$$Y = \gamma(L, M)$$

YMIN = -2.862E 01



③ Villena

7) Catracha

extraída
em vinda

2 Mayo

Lucien 8

Julia

2

July 8

SECRETARY OF THE ARMY

2000-2001

—A
M J N, 4
亦由海軍軍官軍官

00 3747 2 = A V M A

1001

UNIT

existente entre aceites procedentes de localidades próximas, probablemente debido al parecido en la composición de los suelos.

En la figura 46 hemos procurado representar las anteriores categorías, de forma que ocupen regiones del plano diferentes. La separación se logra fácilmente, debido sobre todo a las diferencias del componente número 1 de KARLOV. A la derecha de la tabla con valores altos de dicho componente, aparecen los seis T. capitatum de Vaciamadrid [2], son los que poseen mayor proporción de nerolidol y sobre todo de germacreno D. A la izquierda de la tabla, coincidiendo todos ellos en valores bajos para el componente 1, están todos los aceites de T. capitatum recogidos en la región levantina ③ - (Valencia, Alicante y Murcia), aunque como se puede observar entre ellos se diferencian por el valor del componente 3, variando su contenido en α -pineno y β -pineno de ser máximo en el T. capitatum de Cartagena a mínimo en las muestras de La Cañada y Villena. Todos ellos poseen concentración escasa o nula de germacreno D y nerolidol.

Los señalados por 1, son los aceites de T. capitatum de la región interior de la península (Madrid, Toledo, Cuenca y Albacete). Estos se encuentran situados entre el grupo de Vaciamadrid y el de la región levantina, con un contenido pequeño o medio de germacreno D y nerolidol, y muy variado, de α -pineno y β -pineno.

Dado que el compuesto mas importante en el componente número 1 es el germacreno D, hemos representado en la figura 48 la concentración de este componente frente a otro escogido, el t-pinocarveol. La separación en este caso no es perfecta, pero se pueden ver agrupaciones bien definidas.

Para conseguir esta separación, hemos utilizado, al igual -

00-7007-00

Y= 14(TPIN)

YMTN = 0.0

COD = NIMX

CATEGORY PL. 17

$x = 1A(CEKH)$

② $\chi^2_{MAX} = 3.7801$

1017d

1007

[2] Vaciamadrid

③ R. Levantina

1 Restantes

(Fig. 48)

que en el caso de todos los aceites, los programas PLANE y MULTI.

Las ecuaciones de los hiperplanos que separan cada par de categorías, al aplicar PLANE, se muestran en la página siguiente. La clasificación así obtenida es correcta en el 100 % de los casos. Se puede observar que se han eliminado dos componentes, el 81 y el cadinenol, por no estar presentes en la mayoría de los aceites de T. capitatum. Los componentes que mas influyen en esta particular separación, por orden de importancia son los siguientes:

Propios de <u>T. capitatum</u> del interior	<u>T. de Vaciamadrid</u>
β -Pineno	Germacreno D
Linalol	Nerolidol
t-Pinocarveol	

<u>T. capitatum</u> del interior	<u>T. capitatum</u> levantinos
β -Pineno	Limoneno
Cadinol I	4-terpineol
Germacreno D	Componente 8
	p-Cimeno

<u>T. capitatum</u> Vaciamadrid	<u>T. capitatum</u> levantinos
Germacreno D	-

Las mayores similitudes entre muestras de categorías diferentes son las siguientes:

<u>T. capitatum</u>	de Vaciamadrid	mas parecido	al del interior:	8T1/3
"	"	" interior	"	" al de Vaciamadrid: 871/12
"	"	" Levante	"	" al interior: 871/13, 9T1/6
"	"	" interior	"	" al de Levante: 9T1/12
"	"	" Vaciamadrid	"	" al de Levante : ninguno
"	"	" Levante	"	" al de Vaciamadrid: ninguno

*****CLASSES 1 AND 2*****

MAJOR PASS	NUMBER OF MINOR PASSES	NUMBER RIGHT	PERCENT RIGHT
1	2	10	100.0000

PLANE SEPARATED CLASS 1 FROM CLASS 2 IN 4 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS

-3.0830E-01	-1.2844E-00	4.9029E-01	5.0000E-01	1.4181E-01	-5.4127E-01	-5.1234E-01	3.2295E-02	-1.1484E-00	-1.0100E-00
-1.1027E-02	-6.4743E-02	-2.7446E-01	-9.1895E-01	2.9549E-01	1.8230E-01	4.0000E-01	7.9441E-01	-1.9043E-01	-7.5290E-01
1.2402E-01	4.5714E-01	-9.0031E-02	2.3591E-01	2.3256E-01	3.5868E-01	4.9833E-02	3.9442E-01	3.1234E-01	

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR

PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT	PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
1	ST1 *1	1.	-4.5640E 01	2	TT1 *1	2.	1.8565E 01
4	TT1 *3	1.	-1.9197E 01	5	ST1 *1	2.	8.1025E 00
9	AT1 *5	1.	-6.8609E 00	6	ST1 *2	2.	1.7071E 01
12	AT1 *9	1.	-1.3080E 01	7	ST1 *3	2.	2.9731E 00
15	AT1 *11	1.	-3.0520E 01	8	ST1 *4	2.	1.3933E 01
16	AT1 *12	1.	-5.9566E 00	19	ST1 *1	2.	1.4384E 01
18	AT1 *14	1.	-1.2241E 01				
20	AT1 *2	1.	-1.7156E 01				
21	AT1 *3	1.	-1.0645E 01				
22	AT1 *4	1.	-1.4295E 01				
23	AT1 *5	1.	-1.4517E 01				
25	AT1 *7	1.	-3.1422E 01				
27	AT1 *9	1.	-6.1757E 01				

WHICH IS 100.00 PERCENT CORRECT

AND NOW FOR THE TEST SET...

PATTERN NUMBER	NAME	INPUTED CLASS	DISCRIMINANT	PATTERN NUMBER	NAME	INPUTED CLASS	DISCRIMINANT
30	TT4 *1	4.	7.7232E 00				

*****CLASSES 1 AND 3*****

MAJOR PASS	NUMBER OF MINOR PASSES	NUMBER RIGHT	PERCENT RIGHT
1	2	19	90.4762
2	2	20	95.2381
3	2	21	100.0000

PLANE SEPARATED CLASS 1 FROM CLASS 3 IN 10 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS

2.0263E-01	-1.4311E-00	4.2274E-01	4.3742E-01	-3.0383E-01	1.1022E 00	4.1253E-01	3.5183E-01	1.2508E-01	1.2298E-01
-3.7675E-01	7.6374E-01	-9.1411E-02	-4.9163E-01	1.9027E-01	-4.3743E-01	2.5351E-01	-5.1061E-01	-2.9455E-01	-1.7173E-01
2.4230E-01	3.0284E-01	-4.4520E-01	1.1766E-02	4.4811E-02	1.6573E-01	-4.3904E-01	2.6575E-01	3.2590E-01	

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR

PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT	PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
1	ST1 *1	1.	-1.8242E 01	3	TT1 *2	3.	1.9025E 01
4	TT1 *3	1.	-2.2334E 01	10	AT1 *4	3.	9.8160E 00
9	AT1 *5	1.	-2.1404E 00	11	ST1 *7	3.	4.3106E 00
12	AT1 *9	1.	-1.4075E 01	12	ST1 *8	3.	1.3396E 01
15	AT1 *11	1.	-1.0851E 01	14	ST1 *10	3.	2.3484E 01
16	AT1 *12	1.	-2.6511E 00	17	ST1 *13	3.	5.0190E-01
18	AT1 *14	1.	-1.7905E 01	24	AT1 *4	3.	4.8701E-01
20	AT1 *2	1.	-3.7254E-01	26	AT1 *8	3.	1.8072E 01
21	AT1 *3	1.	-3.1665E 00				
22	AT1 *4	1.	-4.4578E 00				
23	AT1 *5	1.	-4.1365E 00				
25	AT1 *7	1.	-9.6288E 00				
27	AT1 *9	1.	-2.5852E 01				

WHICH IS 100.00 PERCENT CORRECT

AND NOW FOR THE TEST SET...

PATTERN NUMBER	NAME	INPUTED CLASS	DISCRIMINANT	PATTERN NUMBER	NAME	INPUTED CLASS	DISCRIMINANT
30	TT4 *1	4.	-2.9505E 00				

*****CLASSES 2 AND 3*****

MAJOR PASS	NUMBER OF MINOR PASSES	NUMBER RIGHT	PERCENT RIGHT
1	1	14	100.0000

PLANE SEPARATED CLASS 2 FROM CLASS 3 IN 3 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS

3.4124E-01	1.0314E-01	5.0000E-01	5.0000E-01	5.4531E-03	3.3515E-01	5.0000E-01	4.0842E-01	4.1452E-01	4.6947E-01
3.5347E-01	4.6337E-01	4.9389E-01	4.6947E-01	4.2673E-01	3.7789E-01	5.0000E-01	-1.5820E 00	1.6420E-01	4.6000E-01
5.0000E-01	3.4736E-01	2.0000E-01	3.0462E-01	4.6779E-01	4.8779E-01	5.0000E-01	3.4736E-01	4.3894E-01	

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR

PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT	PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
2	TT1 *1	2.	-4.2103E 01	3	TT1 *2	3.	2.5373E 01
4	ST1 *1	2.	-1.0855E 01	10	ST1 *6	3.	2.0980E 01
6	AT1 *2	2.	-3.6109E 01	11	ST1 *7	3.	2.9027E 01
7	AT1 *3	2.	-2.4939E 01	12	ST1 *8	3.	2.4478E 01
8	AT1 *4	2.	-4.9052E 01	14	ST1 *10	3.	2.1656E 01
15	AT1 *1	2.	-3.8859E 01	17	ST1 *13	3.	1.6413E 01
				24	AT1 *4	3.	2.8349E 01
				26	AT1 *8	3.	2.7709E 01

WHICH IS 100.00 PERCENT CORRECT

Los resultados obtenidos al aplicar MULTI se muestran, en la página 148. La separación entre cada categoría y las otras dos, asimismo resulta correcta en el 100 % de los casos. De las ecuaciones de los hiperplanos se deducen los componentes mas representativos de cada categoría.

Así en el T. capitatum de Vaciamadrid el coeficiente mayor corresponde al germacreno D. También son representativos aunque con valores mas pequeños, el nerolidol y componente 78. En los T. capitatum de la región levantina los valores mayores corresponden al limoneno, p-cimeno, sabineno, α -pineno. Los componentes que menos caracterizan estos aceites son el germacreno D y el t-pinocarveol. De las restantes especies del interior parecen ser mas representativos el β -pineno, t-pinocarveol, carvacrol, linalol, mirtenal, mirtenol, mientras el limoneno es el que menos les caracteriza.

Como se ha indicado en el apartado II.1, existe una subsp. botánica del T. capitatum denominada gracillimum, que se extiende por Valencia, Alicante y Murcia. En nuestro caso por falta de testimonio de la planta, no podemos asegurar en la mayoría de los casos, cuales de los T. capitatum que proceden de esta región pertenecen a la subsp. gracillimum. Hemos preferido por tanto, hacer un estudio global agrupando en una categoría todos los de dicha región, puesto que por otra parte se ha obtenido como división natural en VARVAR y en NLM, que se ha visto confirmada en PLANE y MULTI. Sería de gran utilidad comprobar la verdadera identidad de cada una de las plantas estudiadas, por si justificaran las diferencias o similitudes existentes entre ellas.

MULTI

MY INDEX	YOUR INDEX	NAME	CATEGORY TRIF	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT
1	4.511F-01	1.457F-01	1.209F-01	1	1	1	6.590E-01	2	3.346E-01	3	2.874E-01	4.204F-01	9.010E-01
	5.702F-01	5.440F-01	5.510F-01	1	1	1	6.691E-01	2	4.656E-01	3	2.947E-01	5.770E-01	7.302E-01
	5.753E-01	5.295E-01	5.753E-01	6.291E-01	6.291E-01	6.291E-01	6.291E-01	8.782E-01	7.674E-01	1.032E-01	6.367E-01	6.250F-01	6.250F-01
2	6.447F-02	4.670F-01	3.459E-01	5.000E-01	5.000E-01	5.000E-01	5.000E-01	4.641F-01	1.937E-01	1.047E-01	4.960F-01	1.046F-01	4.117F-01
	4.174E-01	3.949F-01	3.949F-01	3.014E-01	3.014E-01	3.014E-01	3.014E-01	4.581E-01	5.185E-01	5.000F-01	1.139E-01	4.977E-01	4.110F-01
	4.272F-01	5.804F-01	5.400F-01	5.457E-01	5.457E-01	5.457E-01	5.457E-01	4.444F-01	4.610F-01	4.103F-01	4.600F-01	4.834F-01	4.834F-01
3	9.044E-01	-4.201F-01	1.023E-00	8.176E-01	2.106E-01	1.707E-00	1.707E-00	2.106E-01	1.707E-00	1.469E-00	5.033E-01	1.136E-01	1.787F-01
	2.124E-01	5.403F-01	2.523E-02	-3.340E-02	1.912F-01	4.403E-01	4.403E-01	1.912F-01	4.403E-01	7.324E-01	-3.674E-01	2.431E-01	1.155F-01
	7.075F-01	1.000E-01	3.839E-01	3.251E-01	1.770F-01	2.715E-01	2.715E-01	1.770F-01	2.715E-01	5.743E-02	4.033E-01	5.206E-01	5.206E-01
4	12 RT1 02	1	1	1	1	1	5.292E-01	2	3.677E-01	3	3.494F-01	3	3.494F-01
5	15 RT1 011	1	1	1	1	1	4.543E-01	2	2.915E-01	3	2.583E-01	3	2.583E-01
6	16 RT1 012	1	1	1	1	1	4.633E-01	2	4.242E-01	3	2.105E-01	3	2.105E-01
7	18 RT1 014	1	1	1	1	1	1.940E-01	2	4.636E-01	3	3.074E-01	3	3.074E-01
8	20 RT1 02	1	1	1	1	1	5.178E-01	2	3.434E-01	3	4.572F-01	3	4.572F-01
9	21 RT1 03	1	1	1	1	1	5.120E-01	2	4.160E-01	3	2.649E-01	3	2.649E-01
10	22 RT1 04	1	1	1	1	1	5.246E-01	2	3.534E-01	3	3.190F-01	3	3.190F-01
11	23 RT1 05	1	1	1	1	1	3.928E-01	2	2.487E-01	3	3.080F-01	3	3.080F-01
12	25 RT1 07	1	1	1	1	1	5.967E-01	2	3.509E-01	3	4.330F-01	3	4.330F-01
13	27 RT1 09	1	1	1	1	1	6.364F-01	2	3.701E-01	3	3.735E-01	3	3.735E-01
14	27 RT1 01	2	2	1	1	1	5.408E-01	2	6.956E-01	3	2.457F-00	3	2.457F-00
15	5 RT1 01	2	2	1	1	1	3.867E-01	2	5.190E-01	3	2.191E-01	3	2.191E-01
16	6 RT1 02	2	2	1	1	1	5.606E-01	2	6.538E-01	3	2.764F-00	3	2.764F-00
17	7 RT1 03	2	2	1	1	1	5.592E-01	2	5.678E-01	3	1.271F-01	3	1.271F-01
18	8 RT1 04	2	2	1	1	1	6.234E-01	2	7.325E-01	3	-2.237F-00	3	-2.237F-00
19	10 RT1 01	2	2	1	1	1	6.036E-01	2	6.901E-01	3	4.129F-00	3	4.129F-00
20	3 RT1 02	3	3	1	1	1	1.537E-01	2	2.342F-01	3	4.381F-01	3	4.381F-01
21	10 RT1 04	3	3	1	1	1	3.175E-01	2	3.489E-01	3	4.052F-01	3	4.052F-01
22	11 RT1 07	3	3	1	1	1	4.964E-01	2	2.335E-01	3	5.851F-01	3	5.851F-01
23	12 RT1 09	3	3	1	1	1	3.232F-01	2	2.549E-01	3	4.884F-01	3	4.884F-01
24	14 RT1 010	3	3	1	1	1	2.284F-01	2	3.194E-01	3	4.231F-01	3	4.231F-01
25	17 RT1 013	3	3	1	1	1	2.570E-01	2	1.951F-01	3	2.875E-01	3	2.875E-01
26	24 RT1 06	3	3	1	1	1	1.834F-01	2	2.927E-01	3	4.154E-01	3	4.154E-01
27	26 RT1 08	3	3	1	1	1	3.049E-01	2	2.670E-01	3	4.011F-01	3	4.011F-01

CONCLUSIONES

1. Se ha estudiado la composición de los aceites esenciales procedentes de cincuenta muestras de plantas del género Teucrium, correspondientes a once especies diferentes, algunas de ellas endémicas de nuestro país (Tabla I). Para ciertas especies, se han recogido muestras en diferentes épocas y lugares, con objeto de estudiar la variación en la composición del aceite.

2. Para el aislamiento del aceite, se ha elegido el método de arrastre en corriente de vapor con reciclación de agua, buscando reducir al máximo las posibles alteraciones de los componentes.

3. Como técnicas de fraccionamiento del aceite, previo a su posterior estudio, se han empleado fundamentalmente la cromatografía en columna líquido-sólido y la cromatografía de gases preparativa. En el primer caso se han utilizado tanto columnas largas - como columnas cortas con sobrepresión, con gel de sílice como adsorbente y mezclas de n-hexano y eter como eluyentes más comunes, con el objeto de obtener fracciones enriquecidas en componentes de interés. En cromatografía de gases preparativa se han utilizado columnas de relleno, con gradiente de concentración de fase. Esta última técnica ha resultado muy útil para el aislamiento de compuestos puros.

4. La técnica utilizada tanto para el control de fracciones

como para la caracterización de los componentes y su análisis cuantitativo, ha sido la cromatografía de gases. Con estos fines se han utilizado columnas capilares de vidrio de pared recubierta (WCOT) - de alta eficacia.

5. Para la identificación de los componentes de los aceites se ha empleado fundamentalmente el acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).

6. Además de las columnas capilares WCOT antes citadas se han ensayado diversos tratamientos o recubrimientos de pared con el fin de obtener columnas de elevada eficacia y capacidad de carga (Tabla II). En los casos mas satisfactorios, estas columnas se han utilizado en GC-MS para permitir el análisis de componentes traza sin necesidad de pasos previos de enriquecimiento que pudieran alterarlos.

7. En los componentes presentes en concentración media o alta, se han aplicado la espectroscopía infrarroja y la RMN para su identificación o determinación de características estructurales.

8. Se han caracterizado por su retención cromatográfica y datos de masas, noventa y seis compuestos diferentes, cuya relación se encuentra en el apartado III.1. De ellos se han identificado con seguridad sesenta y ocho, mono y sesquiterpenos la mayor parte de ellos, predominantemente hidrocarburos y alcoholes, aunque aparecen también otros tipos de funciones oxigenadas en menor proporción.

9. Se han aportado datos estructurales de veintiseis componentes que no se han podido identificar totalmente. Un hidrocarburo, una cetona, un eter y seis alcoholes monoterpénicos; dos hidrocar-

buros, un eter y seis alcoholes sesquiterpénicos. Se han caracterizado asimismo, un compuesto monoterpénico y cuatro sesquiterpénicos oxigenados, probablemente alcoholes o éteres; y un aldehído y dos alcoholes no terpénicos. Para algunos de estos compuestos se han propuesto posibles estructuras de acuerdo con los datos espectroscópicos disponibles.

10. La determinación cuantitativa de los componentes se ha realizado por GC, fundamentalmente por el método del patrón interno, con los resultados que se muestran en la Tabla III (Apéndice I).

11. Se ha realizado un estudio comparativo de los diferentes aceites (apartado III, 3), mediante el uso de técnicas de análisis multivariante, con el fin de obtener indicaciones sobre la existencia y características de los factores que influyen en la composición del aceite. Las conclusiones obtenidas en este estudio se resumen en los puntos siguientes.

12. La alteración de la composición durante el almacenamiento de las plantas y manipulación del aceite, es importante cuando la cantidad de aceite que se dispone es pequeña. Se produce por lo general una evaporación selectiva de los componentes mas volátiles, y dado que éstos están presentes en un elevado tanto por ciento en los demás aceites, las diferencias cuantitativas son considerables. Sin embargo, las proporciones relativas de compuestos con parecida volatilidad se mantienen constantes, como puede observarse al comparar los cromatogramas.

13. No parece importante, por lo general, la diferencia entre aceites procedentes de plantas de la misma especie, recogidas en la misma localidad, en años sucesivos. En cuanto a la época de

recogida, parece influir cuando se recoge la planta en diferente estado de madurez.

14. Las diferencias entre plantas de la misma especie, de diferentes localidades podrían adscribirse a dos efectos: suelo y clima. Plantas procedentes de localidades cercanas dan lugar a aceites parecidos, lo que parece ser debido a tener el mismo clima y no muy diferente suelo. En cuanto al clima es difícil de sacar conclusiones, pues, si bien se ha podido comprobar una diferencia general entre las plantas de la región levantina y del interior, - existe otro factor de tipo botánico (apartado III, 3), que pudiera influir en la composición de los aceites.

15. Quimiotipos. En el caso del T. capitatum, las muestras de Vaciamadrid presentan con el resto una diferencia tan pronunciada que no puede adscribirse a climas. El suelo de esta localidad - particularmente rico en yesos puede ser la causa de estas diferencias; pero la constancia en composición dentro de la localidad y la separación del resto de los aceites, indican que estas plantas pueden constituir un quimiotipo diferente.

16. Diferencias entre especies. Se observan claras diferencias entre especies, pero aquellas de las que hemos dispuesto de muestras suficientes también presentan una gran variabilidad, debido a las causas anteriores. En algunos casos se observan correlaciones entre clasificación botánica y composición química, aunque para confirmar este hecho se requeriría disponer de mas muestras de cada especie.

17. Por último, mientras unos componentes presentan una distribución al parecer aleatoria dentro de los aceites estudiados, otros

parecen estar fuertemente relacionados con alguno de los cinco - factores anteriores. El caso mas claro es el germacreno D, que - está asociado con las muestras recogidas en Vaciamadrid, ya sea debido a tratarse de un quimiotipo o a la especial constitución de su suelo. Este y otros componentes específicos son importantes como marcadores de diferencias botánicas o debidas a otros factores. Así, en el caso general nos han servido para distinguir la adscripción de los aceites a la especie capitatum, gnaphalodes o al resto, y en el del capitatum para distinguir entre tres tipos diferentes de localidades.

B I B L I O G R A F I A

1. Estadística forestal de España. Año 1.963. Ministerio de Agricultura. Dirección General de Montes, Madrid, 1.965.
2. ACTANDER, S.; "Perfume and Flavor Materials of Natural Origin". Elizabeth N.J. (Estados Unidos), 1.960.
3. HELLYER, R. O., LASSAR, E.V., Mc KERN, H.H.G. y WILLIS, J.L.; Phytochem. 8 (8), 1.513 (1.969).
4. MATEO, C., MORERA, M.P., SANZ, J., CALDERON, J. y HERNANDEZ, A.; Riv. Ital. Essenze, Profumi, Pianta Off., Aromi, Saponi, Cosmet., Aerosol 60, 621 (1.978).
5. VALDES BERMEJO, E. y SANCHEZ CRESPO, A.; Act. Bot. Malac. IV, 27 (1.978).
6. NEUMANN, K.; Planta Med. 13 (3), 331 (1.965).
7. BEAUPIN, C., GRANGER, R., ROSSI, J.C., PASSET, J. y PEYRON, L.; Riv. Ital. Essenze, Profumi, Pianta Off., Aromi, Saponi, Cosmet., Aerosol 59 (8), 369 (1.977).
8. ROVESTI, P.; Inds. Parfum. 12, 343 (1.957).
9. COROVIC, M., STEJEPANOVIC, L., NIKOLIC, R., PARVOLIC, S. y ZIVAMOVIC, P.; Arch. Farm. (Belgrado) 15 (1), 7 (1.965).
10. LIKIC, P., SAVIN, K. y GURONOVIC, M.; Archiv. Farm. (Belgrado)

12 (2), 69 (1.962).

11. WASSEL, G. M. y AHMED, S.S.; Pharmazie 29 (5), 351 (1.974).
12. HASSAN, M.M.A., MAHTADI, F.J. y AL-BADR, A.A.; J. Pharm. Sciences 68, 800 (1.979).
13. VELASCO NEGUERUELA, A., An. Inst. Bot. Cavanilles 34 (1), 317 (1.977).
14. MIRANDA, C. y SUÑE, J.M.; Ars. Pharm. 10 (1-2), 35 (1.969).
15. GOLAY, M.J.E.; "Gas Chromatography 1.960", Butterworths, Londres, (1.960) pags. 139-43.
16. GOLAY, M.J.E.; "Gas Chromatography 1.958", (D.H. Desty, ed.), Butterworths, Londres, (1.958), pags. 36-55.
17. HORVATH, C.; Trennsäulen mit dünnen porösen Schichten für die Gaschromatographie, Inaugural Dissertation, J.W. Goethe University, Frankfurt am Main, West Germany, (1.963).
18. DEELDER, R.S., RAMAEKERS, J.J.M., VAN DER BERG, J.H.M. y WETZELS, M.L.; Journal of Chromatography, 119, 99-107 (1.976).
19. BONDAROVICH, A.S., GIANMARINO, J.A., RENNER, J.A., SHEPARD, F. W., SHINGLER, A.J., y GIANTURCO, M.A.; J. Agr. Food Chem., 15, 36, (1.967).
20. KINLIN, T.E., MURALIDHARA, R., PITTE, A.O., SANDERSON A., y WALRAOT, J.P.; J. Agr. Food Chem., 20 (5), 1.021 (1.972).
21. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral - Data, 1, 397 (1.970).
22. RIHAGE, R. y von SYDOW, E.; Acta Chem. Scand., 17, 2.025 (1.963).
23. von RUDOLF, E. y COUCHMAN, F.M.; Can. J. Chem., 42, 1.890 - (1.964).
24. EPSTEIN, W.W., MCGEE, L.R., POULTER, C.D. y MARSH, L.L.; Journal of Chemical and Engineering Data, 21 (4), 500 (1.976).
25. EIGHT PEAK INDEX of Mass Spectra, Vol I, Mass Spectrometry Data Centre, AWRE, Aldermaston, Reading, RG7 4PR, UK, (1.970).
26. IWAMURA, J., BEPPU, K. y HISAO, N.; Bunseki Kiki, 14 (3), 162

(1.976).

27. BUTTERY, R.G., SEIFERT, R.M., GUADAGNI, D.G., BLACK, D.R y -
LING, L.C.; J. Agr. Food Chem., 16 (6), 1.009 (1.968).
28. NOSE, M., NAKATANI, J. y YAMINISHI, T.; Agr. Biol. Chem., 35
(2), 261 (1.971).
29. ANDERSEN, N.H. y SYRDAL, D.D.; Phytochem., 9, 1.325 (1.970).
30. IWAMURA, J. BEPPU, K. y HISAO, N.; Bunseki Kiki, 14 (2) 112 -
(1.976).
31. SCHREIER, DRAWERT y JUNKER; J. Agr. Food Chem., 24 (2), 331 -
(1.976).
32. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral
Data, 1, 489 (1.970).
33. TSANKOVA, E. y OGNYANOV, I.; Riv. Ital Essence. Profumi. Pian-
te Officinali, 58, 502 (1.976).
34. von SYDOW, E., ANJOU, K., y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral
Data, 1, 441 (1.970).
35. OHLOFF, G. y GIERSCHE, W.; Helv. Chim. Acta, 51, 1.328 (1.968).
36. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral
Data, 1, 448 (1.970).
37. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral
Data, 1, 545 (1.970).
38. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral
Data, 1, 503 (1.970).
39. THOMAS, A.F. y OZAINNE, M.; Helv. Chim. Acta, 61 (8), 2.879 -
(1.978).
40. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral
Data, 1, 507 (1.970).
41. HAYASHI, S., SATO, H., HAYASHI, N., OKUDE, T. y MATSUURA, T.;
J. Sci. Hiroshima Univ. Ser. A-II, 31 (3), 217 (1.967).
42. WALLER, G.R.; "Biochemical Applications of Mass Spectrometry",
Wiley-Interscience, New York, 360 (1.972).

43. ANDERSEN, N.H. y SYRDAL, D.D.; *Phytochemistry*, 9, 1.325 (1.970).
44. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; *Arch. Mass Spectral - Data*, 1, 497 (1.970).
45. RUSSELL, G.F. y JENNINGS, W.G.; *J. Agr. Food Chem.*, 17 (5), - 1.107 (1.969).
46. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; *Arch. Mass Spectral Data*, 1, 401 (1.970).
47. ANDERSON, J. y von SYDOW, E.; *Acta Chem. Scand.* 18, 1.105 (1.964).
48. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; *Arch. Mass Spectral Data*, 1, 435, (1.970).
49. MAURER, B. y GRIEDER, A.; *Helv. Chim. Acta*, 60 (7), 2.177 - (1.977).
50. TRESEL, R., FRIESE, L., FENDESACK, F. y KOPLER, H.; *J. Agr. - Food Chem.*, 26 (6), 1422 (1.978).
51. YAMANASHI, T., NOSE, M. y NAKATANI, Y.; *Agr. Biol. Chem.*, 34 (4), 599 (1.970).
52. HILL, H.C., REED, R.I. y ROBERT-LOPES, M.T.; *J. Chem. Soc.*, - C(1), 93 (1.968).
53. DUEWER, D.L., KOSKINEN, J.R. y KOWALSKI, B.R.; Laboratory for Chemometrics, Department of Chemistry BG-10, University of - Washington, Seattle, Washington 98195.

A P E N D I C E I

TABLA III

[illegible]

	571/1	711/1	711/2	711/3	811/1	811/2	811/3	811/4	811/5	811/6	811/7	811/8	811/9	811/10	811/11	811/12	811/13
22.	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-
23.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24.	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	0,3	0,5	0,9	-	-	-	-	0,4
25.	0,5	0,5	t	-	-	0,7	0,5	0,8	-	0,6	0,7	-	0,7	-	0,2	1,1	0,8
26.	-	-	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	-
27.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28.	-	-	0,2	-	-	0,9	-	-	-	1,9	t	-	-	-	0,3	-	-
29.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-
30.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-
31.	0,5	1,5	0,2	0,6	4,3	0,7	2,4	1,1	1,1	1,1	1,3	0,1	1,4	1,4	1,5	4,5	0,5
32.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	0,5	-	-	-
33.	6,3	1,4	1,0	1,4	1,5	2,3	1,0	1,7	0,8	3,6	2,0	2,9	1,5	7,3	1,9	9,0	1,9
33'.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34.	3,1	0,5	0,2	-	0,6	-	t	0,5	0,6	2,6	1,3	0,5	1,9	1,3	-	1,1	0,2
35.	0,3	0,5	-	-	-	-	0,3	0,4	-	0,8	-	-	-	0,8	0,3	t	-
36.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37.	2,2	2,4	-	7,5	7,5	9,1	2,5	1,7	4,7	1,0	1,3	0,1	1,9	2,8	0,1	4,8	1,2
38.	-	0,6	1,2	-	-	3,1	3,2	0,3	0,9	1,4	3,8	7,4	0,9	4,6	0,3	4,0	2,5
38'.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39.	-	-	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t	0,2	t

	5M1/1	7M1/1	7M1/2	7M1/3	8M1/1	8M1/2	8M1/3	8M1/4	8M1/5	8M1/6	8M1/7	8M1/8	8M1/9	8M1/10	8M1/11	8M1/12	8M1/13
40. Mirtenal	4,6	0,1	t	0,6	-	-	0,2	0,1	1,3	2,9	2,1	1,0	2,0	1,4	0,9	1,2	0,8
41. Aromadendreno	-	-	-	-	-	-	-	-	2,4	-	-	2,1	0,4	0,3	-	0,3	t
42. trans-Pinocarveol	8,7	0,5	0,6	0,9	-	-	0,8	0,5	2,9	7,4	4,0	2,1	2,6	2,1	3,0	2,6	1,5
43.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44.	-	-	-	-	-	-	-	t	t	t	t	-	-	-	-	-	0,4
45. α -Humuleno	-	1,2	-	0,8	0,9	1,0	1,4	0,6	0,7	-	t	1,3	2,1	0,5	0,9	1,5	0,5
46. Verbenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47. γ -Muroleno	1,5	2,0	0,4	2,5	1,5	0,8	0,9	1,2	5,4	2,6	2,9	2,5	10,9	2,4	1,5	1,6	-
48.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49.	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -Terpineol																	
50. Borneol	2,0	-	0,3	-	-	-	-	-	1,4	1,3	1,3	-	-	0,7	0,8	2,5	2,6
Ac. de α -terpenilo																	
51. Isoborneol	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,1	-	-	-	3,0
52. Germacreno D	-	34,1	0,3	9,2	20,5	31,7	25,9	37,8	6,0	3,3	0,9	1,1	4,2	3,1	2,8	12,0	-
53.	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	0,4	-	-	-	-	-	0,8	0,8
54. α -Muroleno y β -bisaboleno	1,0	9,2	-	2,2	7,2	6,7	5,7	6,1	5,9	1,8	0,5	1,2	0,6	4,0	t	5,1	2,3
55. Carvona	t	0,5	0,9	-	-	-	-	-	1,6	7,3	0,3	0,7	0,7	2,5	-	0,3	t
56. δ -Cadineno	1,0	5,5	0,4	4,3	6,3	3,0	4,6	5,3	3,5	0,4	1,0	1,0	3,1	1,5	0,5	8,5	2,3
57. α -Curcumenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	t	-	-

[illegible]

[illegible]

	8T1/14	9T1/1	9T1/2	9T1/3	9T1/4	9T1/5	9T1/6	9T1/7	9T1/8	9T1/9	7T2/1	7T3/1	7T4/1	7T5/1	8T6/1	8T6/2	8T6/3
1. Isovaleraldehido	0,3	t	t	t	-	1,0	t	0,8	0,2	t	0,2	2,1	-	0,1	1,2	0,4	t
2.	0,8	1,9	t	t	0,6	t	t	t	t	t	t	t	-	1,0	0,1	2,1	2,0
3. α -Fuyeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t	t	1,0	t
4. α -Pineno	12,7	4,6	12,3	8,4	12,8	18,1	16,7	18,9	14,5	8,7	1,7	5,8	-	7,2	3,1	8,9	6,7
5. Canfeno	0,4	-	0,2	0,3	0,5	-	0,9	0,8	-	0,2	t	-	-	-	1,0	1,6	0,6
6. β -Pineno	13,6	12,1	14,9	3,5	6,1	5,3	12,8	13,7	3,3	32,9	4,6	14,6	-	6,7	23,5	16,6	11,8
7. Sabineno	3,2	-	-	2,0	2,8	-	16,4	2,2	13,0	-	-	-	-	-	1,5	1,5	2,2
8.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9. Mirreno	15,6	8,5	9,1	5,2	7,4	10,6	3,5	2,9	5,6	5,8	1,5	3,1	-	0,4	0,9	0,3	1,0
10. α -Terpineno	-	-	t	0,4	0,4	-	0,6	-	1,9	-	-	-	-	t	-	t	t
11. Limoneno	5,4	3,2	3,1	3,6	2,0	4,6	2,9	2,1	7,9	18,6	0,9	4,7	-	1,4	4,1	1,9	2,4
12. β -Felandreno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t	t	1,5	-	0,0	0,1	-	1,0
13. 1,8-Cineol	0,5	t	2,1	3,6	-	0,9	1,8	1,0	-	t	0,1	t	-	-	0,4	2,2	0,1
13'.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
14. γ -Terpineno	1,4	t	6,3	3,6	7,4	2,6	0,9	1,0	4,4	1,2	-	t	-	0,7	2,2	-	t
15.	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17. p-Cimeno	2,8	0,7	8,8	8,6	4,0	1,3	4,1	9,4	9,0	3,2	0,8	1,8	0,3	5,9	1,5	0,1	t
18. Terpinoleno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
19. Cetona de artemisia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-	-

20.	-	8P1/14	9P1/1	9P1/2	9P1/3	9P1/4	9P1/5	9P1/6	9P1/7	9P1/8	9P1/9	7P2/1	7P3/1	7P4/1	7P5/1	8P6/1	8P6/2	8P6/3
21.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24.	-	-	t	0,9	-	-	-	-	-	1,1	-	-	-	-	0,6	-	-	-
25.	-	-	0,7	2,1	0,1	0,6	-	-	0,4	2,2	0,1	-	-	-	0,4	-	-	-
26.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,4	1,0	-	-
27.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-	-
28.	-	-	0,4	-	0,3	-	0,6	-	0,5	-	t	-	0,3	-	0,1	-	-	-
29.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t	-	t	-	-	-	-	-
30.	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31.	2,0	0,6	1,2	0,8	1,1	-	-	1,1	1,2	0,4	0,3	-	1,8	-	0,1	t	-	-
32.	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t	-	-	1,0	-	-
33.	1,7	1,2	2,5	2,9	4,1	1,2	2,3	3,7	2,9	2,9	2,4	-	1,6	-	2,3	2,7	-	4,8
33'.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
34.	0,4	0,6	1,5	2,5	2,8	1,1	0,1	0,1	1,1	1,1	0,3	-	0,4	-	-	4,1	-	3,5
35.	-	0,8	0,5	-	-	-	-	0,1	0,8	-	0,3	-	-	-	-	-	-	0,3
36.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37.	1,8	1,8	4,6	6,2	2,6	3,1	4,3	2,5	8,5	1,4	6,2	13,2	0,7	3,4	1,6	-	-	6,5
38.	0,6	-	-	-	3,3	3,1	3,9	2,1	1,6	t	-	-	-	-	-	2,0	-	-

	8P1/14	9P1/1	9P1/2	9P1/3	9P1/4	9P1/5	9P1/6	9P1/7	9P1/8	9P1/9	7P2/1	7P3/1	7P4/1	7P5/1	8P6/1	8P6/2	8P6/3
38. Ao. de 4-terpenilo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	0,1
39.	-	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t	-	3,9	-	0,5	-
40. Mirtenal	0,6	t	1,8	3,0	-	1,9	1,0	3,3	2,5	2,6	1,5	0,3	-	0,4	5,0	8,3	6,3
41. Aromadendreno	-	-	t	t	-	-	-	-	0,8	-	1,1	0,5	-	t	-	-	-
42. trans-Pinocarveol	0,6	0,5	4,3	5,0	4,9	2,7	1,9	4,7	2,7	4,0	3,5	2,2	-	7,0	8,4	11,9	13,5
43.	-	-	-	-	-	-	0,5	0,3	-	t	-	-	-	-	-	-	-
44.	-	-	t	t	t	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-
45. α -Humuleno	0,6	0,6	1,2	1,0	2,2	-	1,9	5,0	t	1,6	1,1	1,9	1,7	1,2	-	-	-
46. Verbenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	3,4
47. γ -Muroleno	1,7	0,9	2,1	2,3	0,7	1,7	0,7	1,8	1,6	0,8	2,0	0,5	1,2	0,9	3,4	3,4	4,5
48.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50. α -Terpineol Borneol Ao. de α -terpenilo	0,6	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0	1,3	-	0,5	1,9	2,2	2,9
51. Isoborneol	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	1,2
52. Germacreño D	11,5	33,0	2,0	9,0	6,7	4,3	0,4	3,0	0,7	0,5	1,0	1,8	0,9	-	1,5	-	-
52'. Dihidro-agarofurano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-
53.	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	1,9	0,3	1,2	-	0,2	1,0	0,9
54. α -Muroleno y β -bisaboleno	1,6	5,2	0,8	3,5	0,4	1,1	0,3	1,0	3,1	0,5	3,9	2,5	1,1	-	2,3	0,5	1,2

	8T1/14	9T1/1	9T1/2	9T1/3	9T1/4	9T1/5	9T1/6	9T1/7	9T1/8	9T1/9	7T2/1	7T3/1	7T4/1	7T5/1	8T6/1	8T6/2	8T6/3
55. Carvona	-	t	t	-	0,1	-	0,4	1,2	-	0,3	-	-	-	-	1,0	0,6	1,0
56. δ -Cadineno	2,9	2,8	4,7	3,7	3,8	1,7	2,7	3,9	0,7	1,7	16,6	4,5	13,9	17,4	0,8	2,4	1,2
57. α -Curcumeno	-	-	-	-	-	-	0,9	2,4	-	0,1	0,6	-	0,9	0,7	-	-	-
58.	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59. Ald. cumínico	t	-	t	0,9	-	0,3	-	2,0	1,3	-	-	0,3	-	0,7	-	-	-
60. Mirtenol	0,3	-	1,2	2,5	1,7	1,0	0,7	-	1,0	1,6	-	0,4	-	-	3,1	3,9	3,4
61. trans-Carveol	-	-	-	-	0,6	-	0,6	1,2	-	1,1	-	-	-	-	-	-	0,3
62. Calameneno	-	-	0,1	-	-	0,2	-	0,2	0,5	t	1,1	1,1	2,0	-	-	-	-
62".	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,6	-	0,4
63.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
64.	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	t	-	t	-	-	-	-	0,3
65. Calameneno-H ₂	-	-	0,2	-	-	0,3	-	-	-	-	-	1,2	-	1,5	-	-	-
66.	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	1,0	4,6	0,3	-	-	-
67. Calameneno-H ₂	-	-	0,6	-	-	0,5	-	-	-	-	0,9	0,4	2,3	-	-	-	-
67'. β -ionona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
68.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,9	-	-	-	-	0,6
68'. Alo. perfílico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t	-	t
69. Ox. de cariofileno	0,6	t	1,4	1,3	1,5	0,9	2,0	2,3	0,2	0,5	1,2	4,0	4,1	1,5	1,1	3,4	3,5
70. Cubenol	-	-	-	-	-	-	0,6	-	0,3	-	1,1	t	0,5	-	-	-	t
71.	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	0,9

	8π1/14	9π1/1	9π1/2	9π1/3	9π1/4	9π1/5	9π1/6	9π1/7	9π1/8	9π1/9	7π2/1	7π3/1	7π4/1	7π5/1	8π6/1	8π6/2	8π6/3
73. Nerolidol	0,3	8,1	1,6	1,9	-	-	t	0,4	-	-	4,0	-	-	-	-	-	-
74. Cadinenol	-	-	-	-	1,3	-	t	0,1	-	0,2	1,8	1,5	4,0	-	0,2	-	-
75.	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	0,6	-	-	-	-	-
76. Elemol	-	-	-	-	t	0,2	1,6	0,1	0,2	0,5	-	-	-	-	0,2	-	2,0
77.	-	-	-	-	-	-	-	2,1	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1
78.	1,5	1,4	1,2	2,7	1,9	1,2	0,9	4,5	1,3	1,0	5,6	6,7	5,0	3,7	1,2	0,4	1,0
79. Isoeugenol	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80. t-Cadinol	4,5	2,4	0,5	1,4	0,9	0,7	1,1	-	0,5	0,4	6,4	3,9	21,8	0,8	-	-	-
81.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,3	1,1	2,8
82. α-Cadinol I	3,1	0,6	5,7	2,4	1,9	0,1	0,6	1,9	-	0,3	8,0	1,1	2,6	2,1	0,9	0,5	-
82'. Timol	-	t	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-
83. Farnesol	-	-	-	-	1,5	-	0,6	0,7	-	-	-	0,3	4,2	3,6	0,6	0,4	-
84. 1,6 dimetil 4-isopropil naftaleno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85. Carvacrol	0,7	-	1,4	4,0	-	0,6	-	-	-	-	0,5	0,4	-	t	0,1	-	-
86. α-Cadinol II	1,4	4,1	0,3	1,3	3,0	0,2	0,7	1,0	-	0,2	9,3	2,1	7,7	4,0	0,1	0,6	0,5
87.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t	-	0,4
88.	-	-	-	0,4	-	1,1	-	-	-	-	-	-	7,3	2,4	t	-	-
89.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-

[illegible]

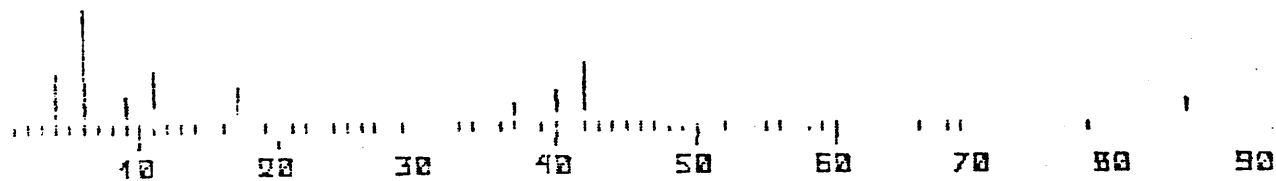
	8P6/4	8P6/5	8P6/6	9P6/1	9P6/2	9P6/3	8P7/1	9P7/1	8P8/1	8P9/1	9P9/1	8P10/1	9P10/1	5P11/1	9P12/1	9P13/1
21.	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	t	t	0,2	-	-
22.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t	t	0,1	-	-
23.	-	-	-	-	-	-	0,5	0,3	-	1,2	-	t	t	0,1	-	-
24.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-
25.	-	-	0,5	0,4	0,2	-	2,4	2,3	4,6	-	-	5,7	5,7	1,2	0,3	0,3
26. Tuyona, p-Cimeneno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27. Oxido de linalilo trans	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28. -Copaeno	-	2,3	-	0,3	0,1	-	0,5	0,5	0,9	-	-	-	-	-	-	0,1
29. Oxido de linalilo cis	-	0,9	-	-	-	-	-	t	-	t	-	-	-	-	-	t
30.	-	-	-	0,4	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31. β -Bourboneno y alcanfor	-	t	1,0	1,5	1,1	0,8	15,1	18,5	-	7,1	-	1,7	0,6	0,2	0,1	0,2
32. Ox. de α -pineno	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	t	-	t	-	-
33. Linalol	1,1	1,9	2,3	2,2	1,7	2,0	7,8	12,3	2,0	1,2	-	1,8	3,8	1,6	2,1	0,2
33'. Isopinocanfona	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34. Pinocarvona	0,7	2,1	2,3	1,5	2,4	3,8	0,5	t	1,0	-	-	0,2	t	1,2	0,4	0,2
35. Ac. de isobornilo	-	1,0	0,1	1,2	1,3	-	-	-	-	1,1	1,6	0,2	-	0,3	0,4	-
36.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-
37. Cariofileno	5,5	7,5	6,6	3,8	6,0	4,7	1,6	3,3	4,6	4,8	14,9	7,2	2,0	2,8	1,1	1,1
38. Terpinen-4-ol	2,1	-	0,2	0,3	t	-	-	0,4	1,2	4,6	0,8	-	-	0,9	0,4	0,6
38'. Ao. de 4-terpenilo	-	-	-	-	-	t	-	-	-	-	-	0,4	0,2	-	-	-
39.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t	-	0,3	-	0,2	-	-

	8T6/4	8T6/5	8T6/6	9T6/1	9T6/2	9T6/3	8T7/1	9T7/1	8T8/1	8T9/1	9T9/1	8T10/1	9T10/1	5T11/1	9T12/1	9T13/1
40. Mirtenal	1,1	2,5	2,5	4,0	3,9	4,7	0,4	0,2	1,0	0,4	1,7	0,1	-	1,6	0,4	0,3
41. Aromadendreno	1,1	0,9	0,5	-	-	-	-	1,4	1,2	-	-	-	-	-	-	-
42. trans-pinocarveol	1,9	6,0	4,7	7,2	7,0	5,7	0,3	1,2	2,1	0,3	0,6	0,1	-	2,6	0,2	0,3
43.	-	-	-	0,3	0,4	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-
44.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	0,4	0,1	-
45. α -Humuleno	-	-	-	-	-	-	1,2	0,6	1,7	1,8	0,8	1,5	1,6	1,7	2,9	0,8
46. Verbenol	1,2	1,4	1,7	3,6	4,6	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47. γ -Muroleno	4,5	4,4	2,5	1,4	1,6	2,0	-	1,1	2,1	0,9	1,6	2,9	5,9	0,8	0,2	0,4
48.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	t	-
49.	-	-	-	-	-	-	1,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50. α -Terpineol	1,6	0,8	1,0	-	0,4	1,2	1,4	0,4	1,8	-	1,1	0,2	0,4	1,2	0,4	1,2
Borneol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac. de α -terpenilo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51. Isoborneol	-	3,1	-	1,3	1,1	-	-	-	0,9	9,1	0,5	-	-	-	3,1	4,7
52. Germaoreno D	1,5	-	1,0	1,1	0,2	0,1	8,9	3,3	0,7	-	-	15,7	9,2	-	-	2,0
52'. Dihidro-agarofurano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53.	-	-	-	-	-	-	3,5	4,9	0,5	-	-	-	-	-	-	0,3
54. α -Muroleno y β -bisaboleno	1,5	-	0,4	0,6	0,4	1,0	t	t	1,0	5,2	3,6	0,9	1,4	1,9	0,8	0,3
55. Carvona	-	1,7	0,4	t	-	0,3	-	-	0,2	-	-	0,1	-	-	0,1	-

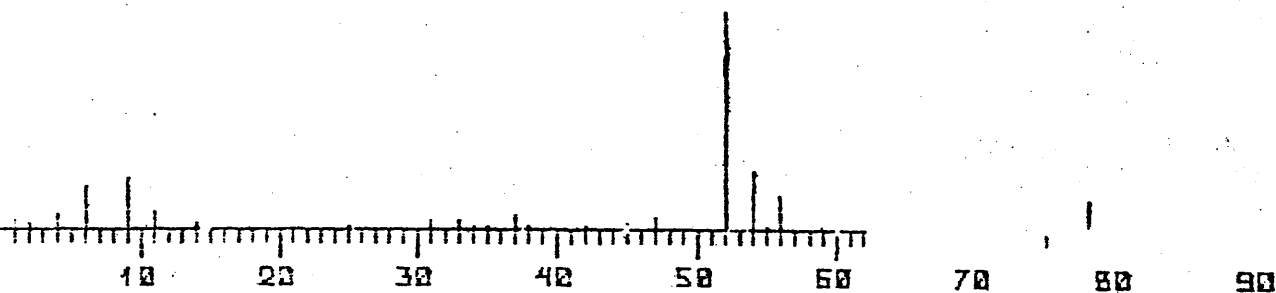
	8P6/4	8P6/5	8P6/6	9P6/1	9P6/2	9P6/3	8P7/1	9P7/1	8P8/1	8P9/1	9P9/1	8P10/1	9P10/1	5P11/1	9P12/1	9P13/1
56. δ -Cadineno	2,8	5,4	4,1	1,0	2,0	0,6	2,0	3,1	4,0	2,1	21,2	1,3	1,2	2,5	1,3	1,1
57. α -Curcumeneno	0,7	-	-	-	-	-	-	t	-	-	-	-	t	-	0,2	-
58.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59. Ald. cumínilo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,1	t	-	-	-
60. Mirtanol	0,8	2,3	1,6	3,5	3,5	2,4	0,1	t	0,7	-	0,5	0,1	0,3	1,0	t	0,2
61. trans-Carveol	-	-	0,4	0,5	0,8	-	1,8	0,6	0,2	-	1,4	-	-	0,7	-	0,3
62. Calameneno	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	0,3	-	-
62 ¹ .	-	0,3	0,2	-	-	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64.	-	0,1	-	-	0,2	t	0,8	0,4	0,3	-	-	-	-	0,1	-	-
65. Calameneno-H ₂	-	-	-	t	0,3	-	-	-	-	-	3,4	-	-	0,7	0,3	0,3
66.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67. Calameneno-H ₂	-	2,4	0,6	-	0,1	-	-	-	-	-	1,2	-	-	1,4	t	0,1
67 ¹ . β -ionona	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-
68.	1,6	1,6	1,0	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	0,5	-
68 ¹ . Alc. Perílico	t	t	t	t	t	t	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69. Ox. de Cariofileno	2,1	4,0	5,3	4,2	4,3	3,3	1,2	1,6	0,4	1,3	1,6	0,7	0,4	1,4	1,0	0,2
70. Cubenol	-	t	1,3	0,7	-	t	-	0,4	-	-	-	-	-	-	0,1	-
71.	-	-	1,1	0,5	0,6	0,4	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-
72.	-	-	2,1	0,4	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-
73. Nerolidol	2,4	1,1	8,2	15,3	1,8	-	-	-	0,5	0,6	5,1	-	-	1,0	-	0,2

[illegible]

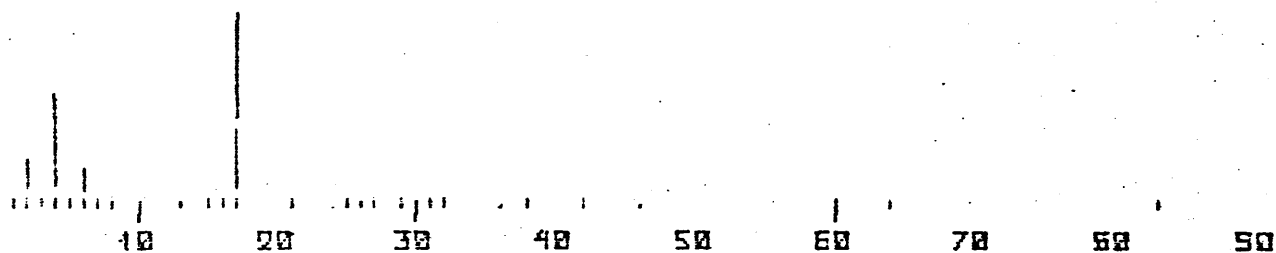
A P E N D I C E I I



5T11/1 CAPITATUM (Hellín)



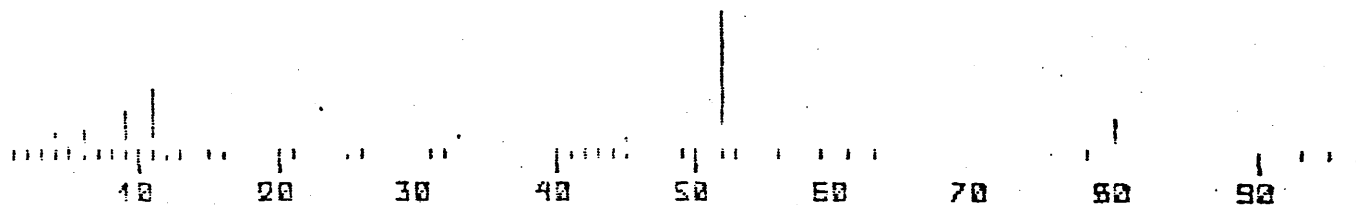
7T11/1 CAPITATUM (Vaciemadrid)



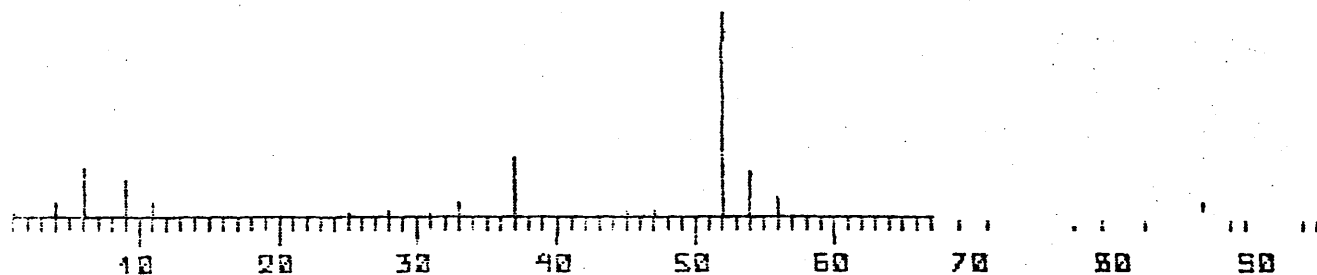
7T11/2 CAPITATUM (Cartagena)



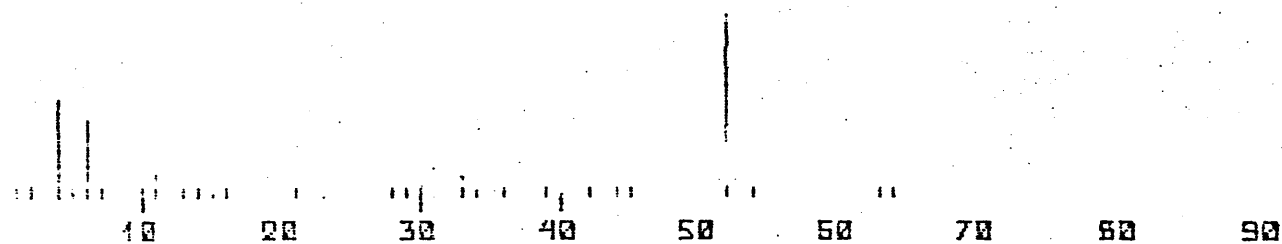
7T11/3 CAPITATUM (Arganda)



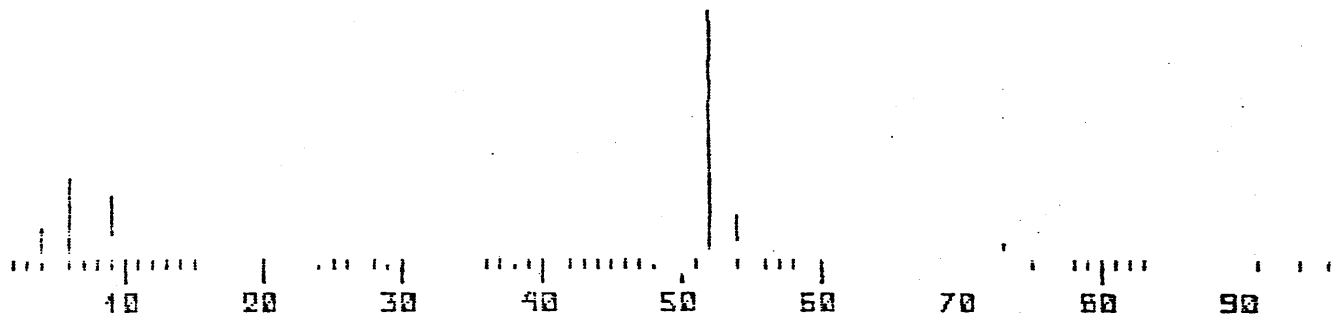
8T1/1 CAPITATUM (Vaciamadrid)



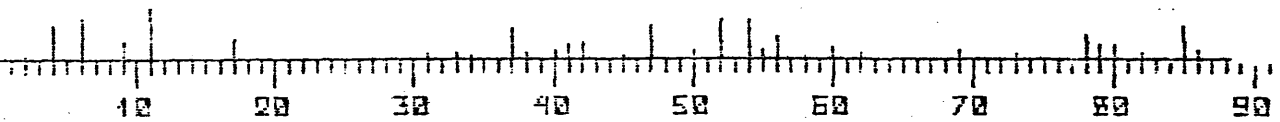
8T1/2 CAPITATUM (Vaciamadrid)



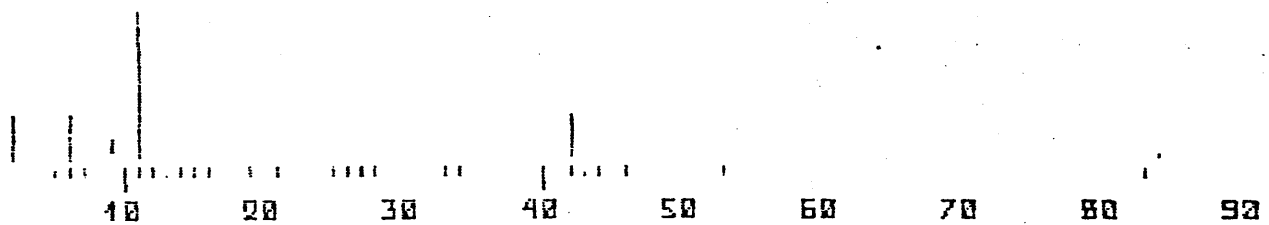
8T1/3 CAPITATUM : (Vaciamadrid)



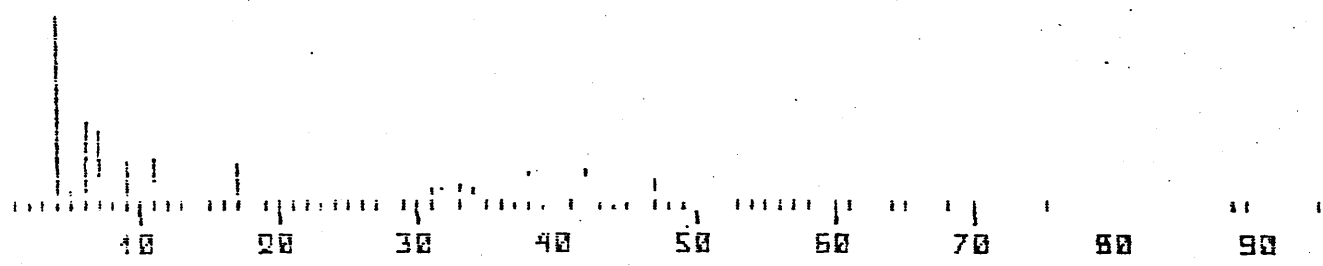
8T1/4 CAPITATUM (Vaciamadrid)



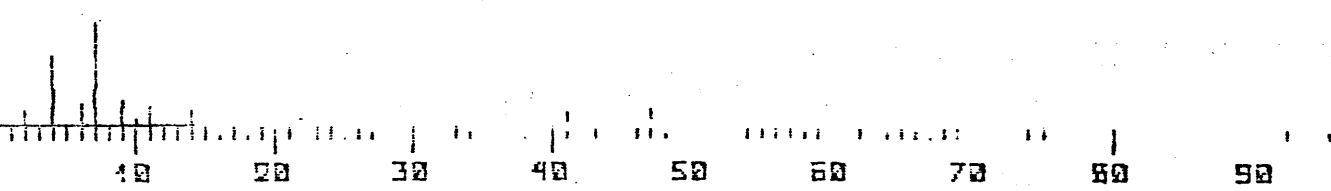
8T1/5 CAPITATUM (Almansa)



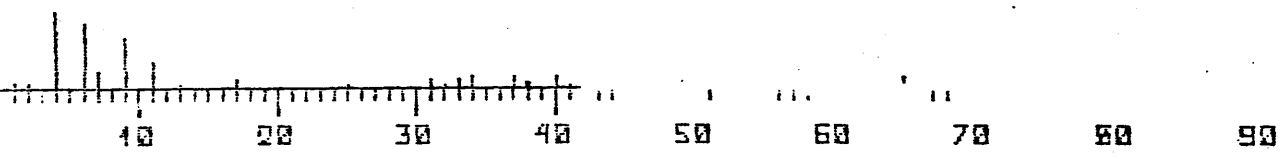
8T1/6 CAPITATUM (La Cañada)



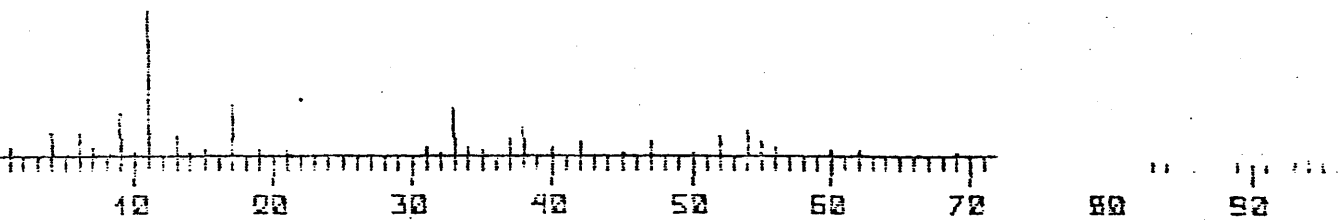
8T1/7 CAPITATUM (Eliana - Ribarroja)



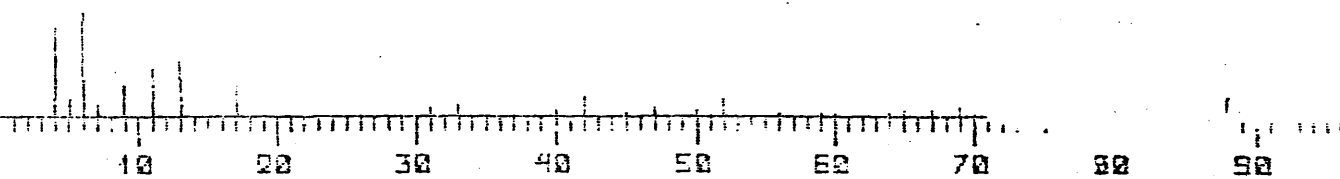
8T1/8 CAPITATUM (El Altet)



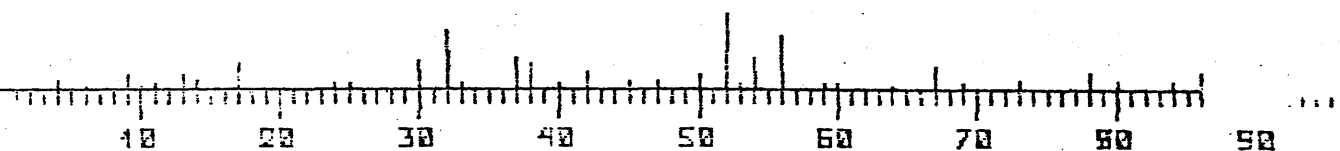
8T1/9 CAPITATUM (Morata - Valdelaguna)



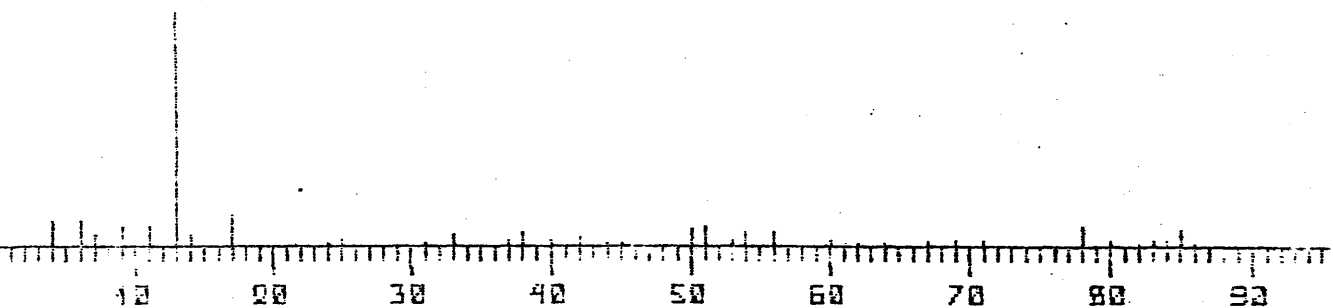
8T1/10 CAPITATUM. (Villena)



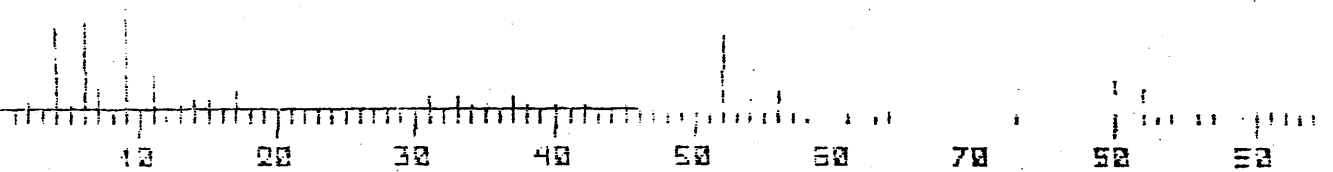
8T1/11 CAPITATUM. (Arganda)



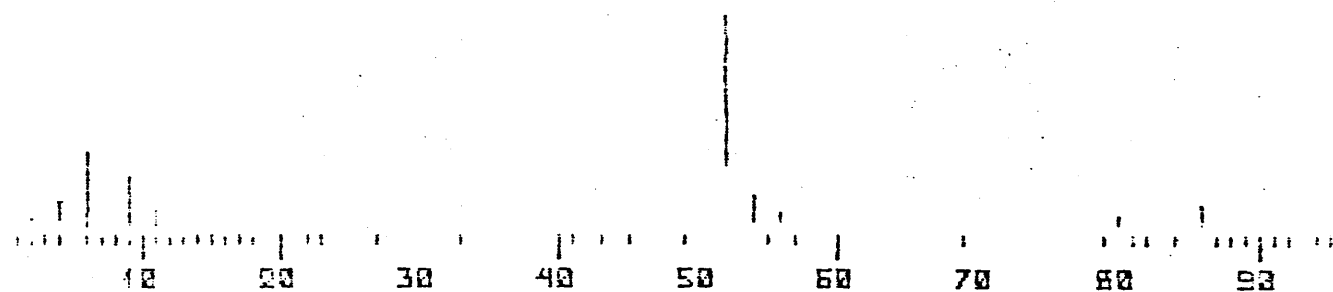
8T1/12 CAPITATUM. (Tarancón)



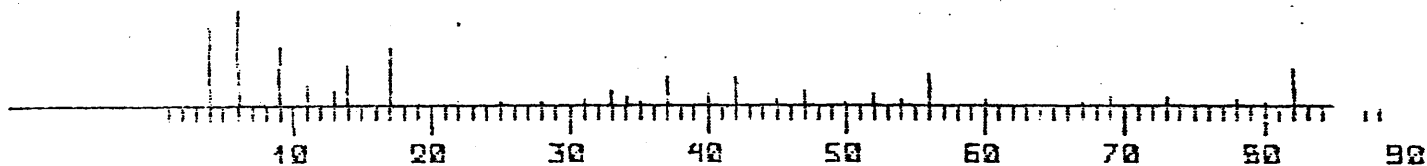
ST11/13 CAPITATUM. (Corbera)



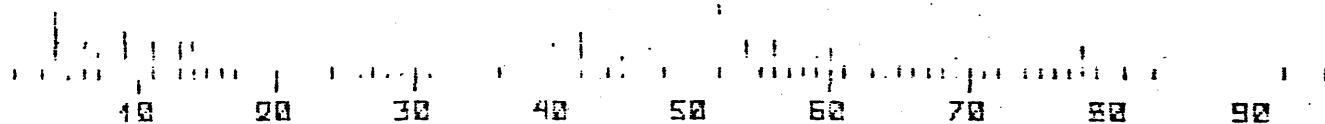
ST11/14 CAPITATUM (Morata de Tajuña)



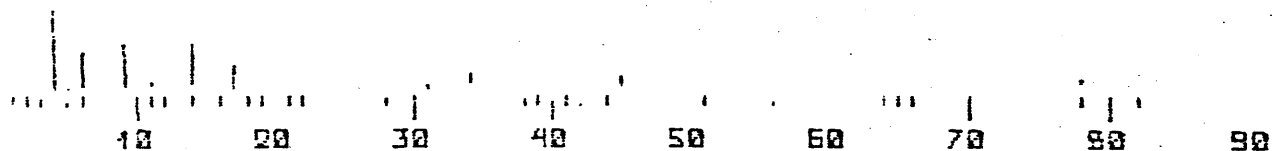
ST11/1 CAPITATUM. (Vaciamadrid)



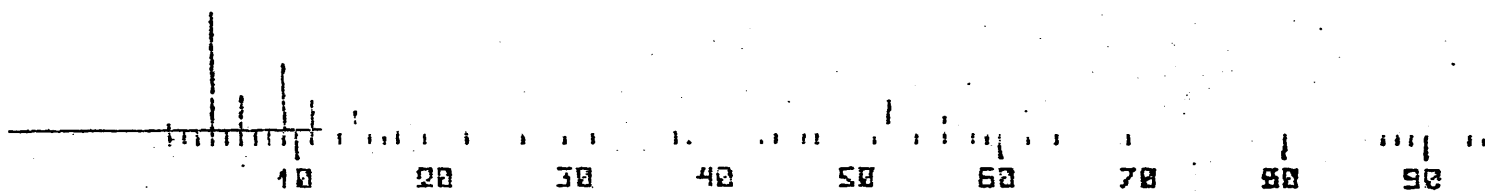
9T1/2 CAPITATUM. (Campo Real - Carabaña)



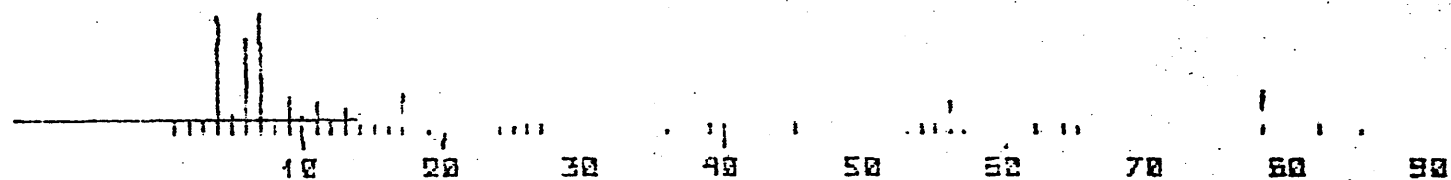
9T1/3 CAPITATUM. (Carabaña)



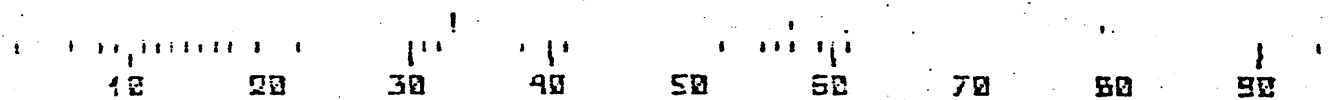
9T1/4 CAPITATUM. (Campo Real - Carabaña)



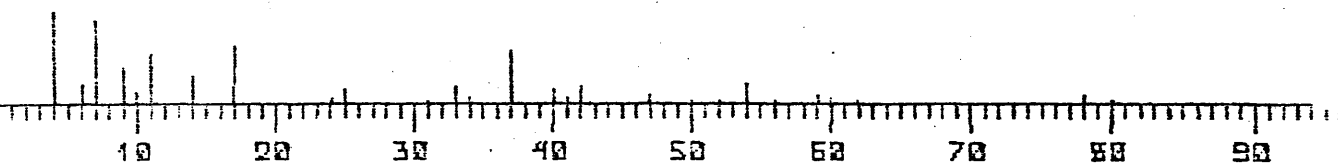
9T1/5 CAPITATUM. (Arganda - Morata)



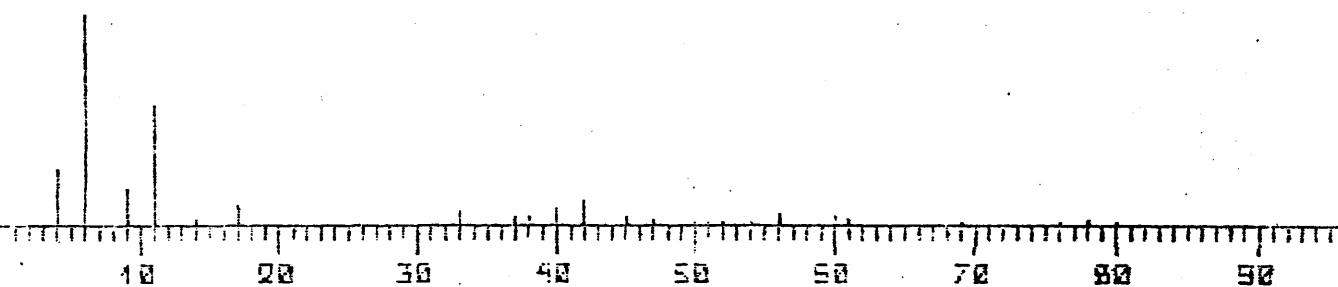
9T1/6 CAPITATUM. (Aguilas - Mazarrón)



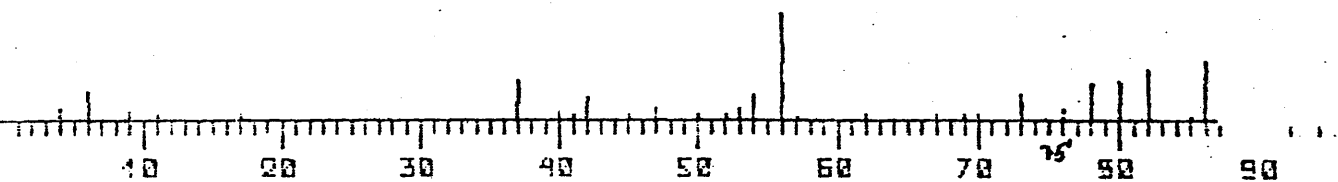
9T1/7 CAPITATUM. (Yepes)



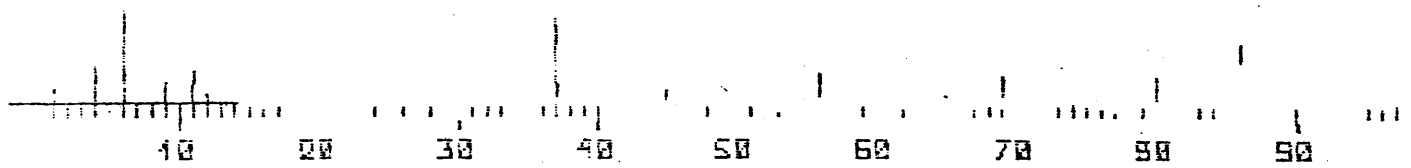
ST11/8 CAPITATUM. (El Altet)



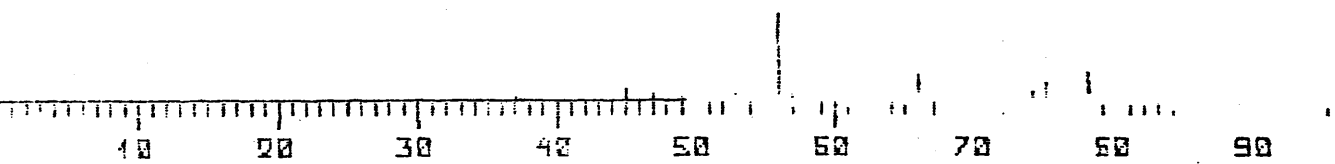
ST11/9 CAPITATUM (Tobarra - Hellín)



7T2/1 ERIOCEPHALUM. (Adra)



7T3/1 LANIGERUM (Mazarrón - Aguilas)



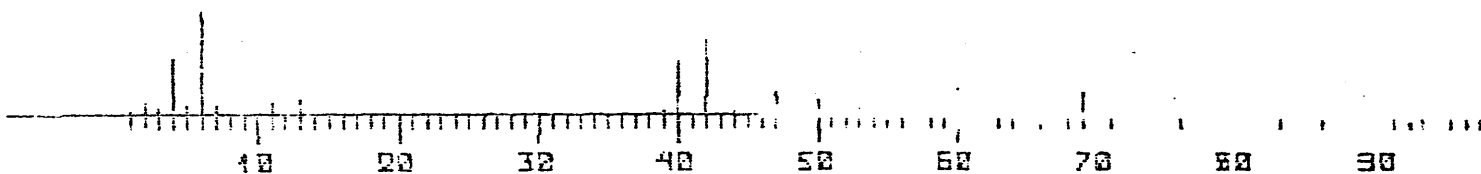
7T4/1 CAROLIPAUI (S. Juan de los Terreros)



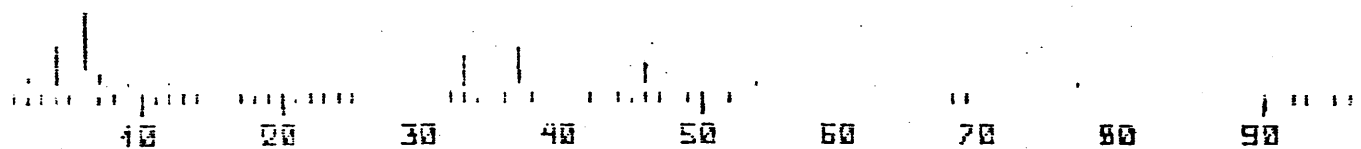
7T5/1 CHARIDEMI (Cabo de Gata)



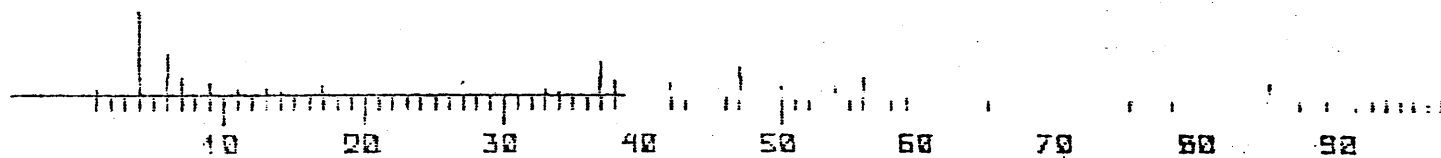
8T6/1 GNAPHALODES (Yepes)



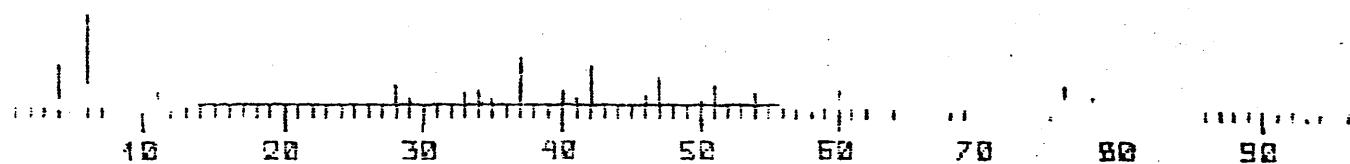
8T6/2 GNAPHALODES (Puerto de Cabrejas)



8T6/3 GNAPHALODES (Barranco del Infierno)



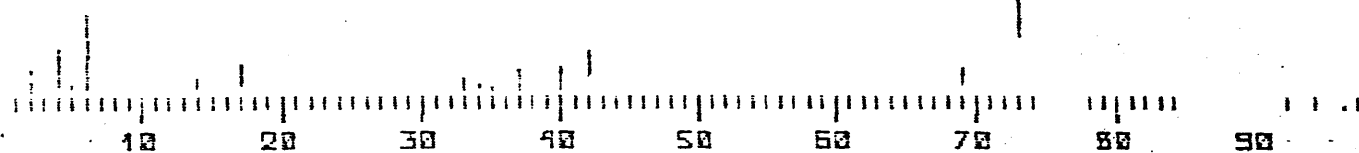
STS/4 GNAPHALODES. (Bonete - Almansa)



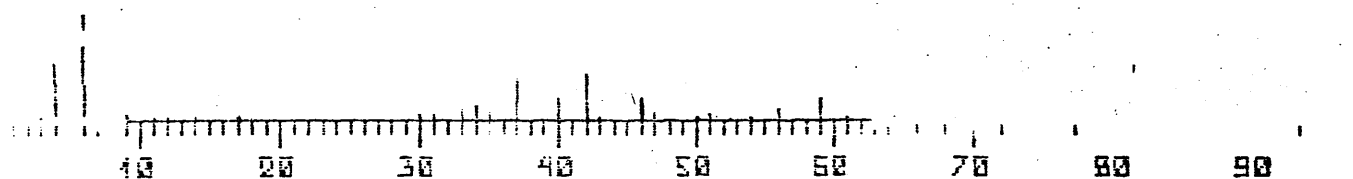
STS/5 GNAPHALODES (Teruel)



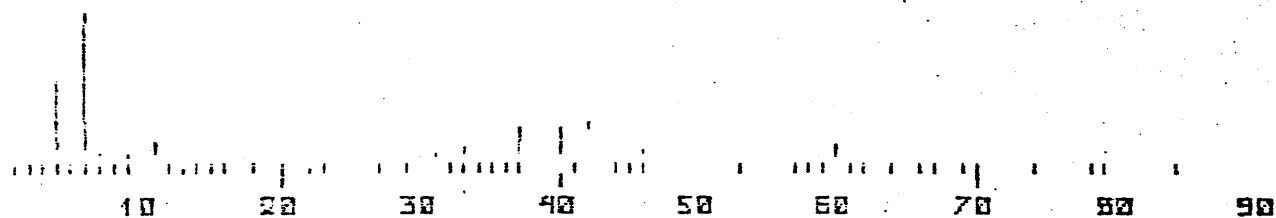
STS/6 GNAPHALODES (Cuenca)



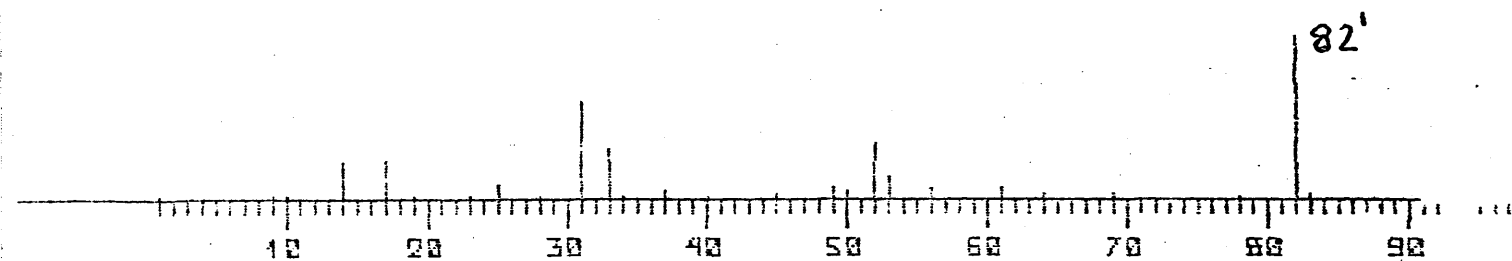
9T6/1 GNAPHALODES (Campo Real - Carabaña)



9T6/2 GNAPHALODES (Arganda)



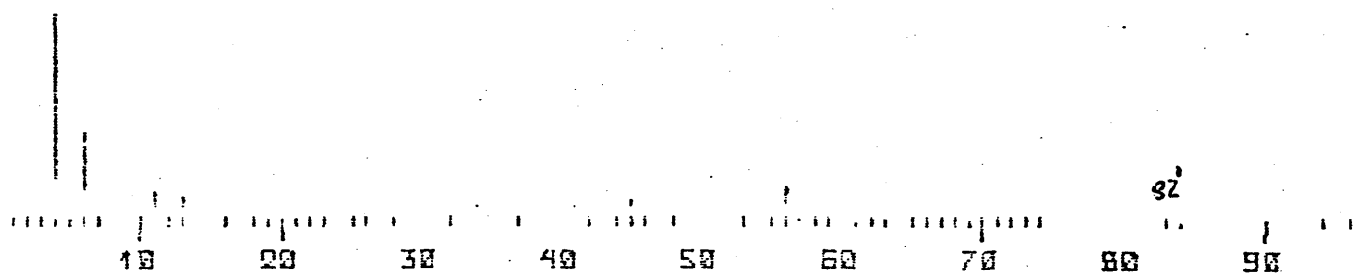
9T6/3 GNAPHALODES (Barranco del Infierno)



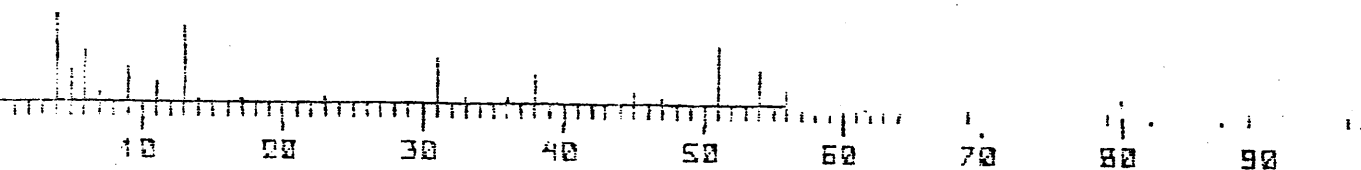
9T7/1 PSEUDOCHEMAEPITYS (Morata - Valdelaguna)



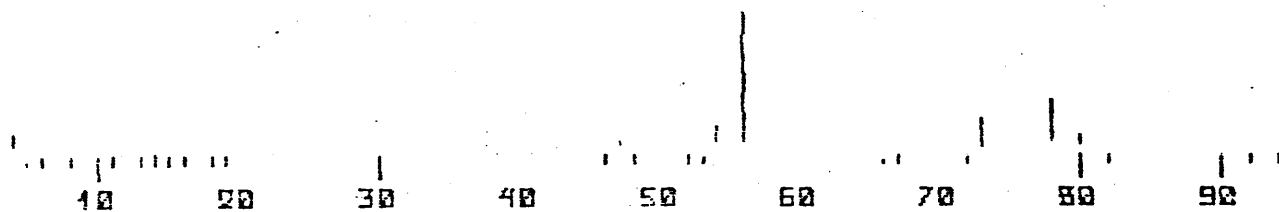
9T8/1 PSEUDOCHEMAEPITYS (Arganda - Morata)



9T8/1 PUMILUM (Fuentidueña del Tajo)



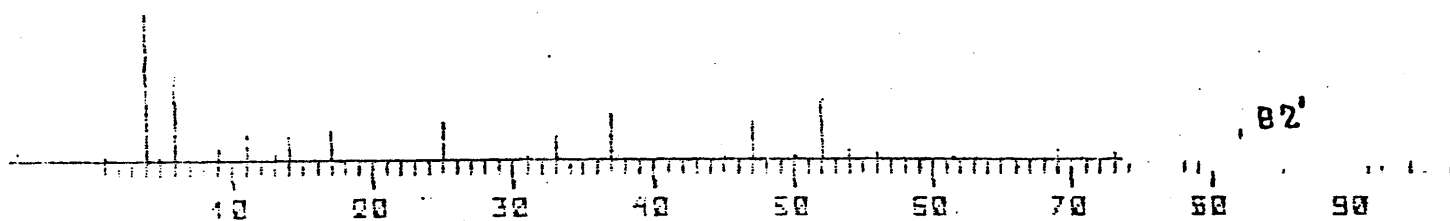
8T9/1 HOMOTRICUM (Corbera)



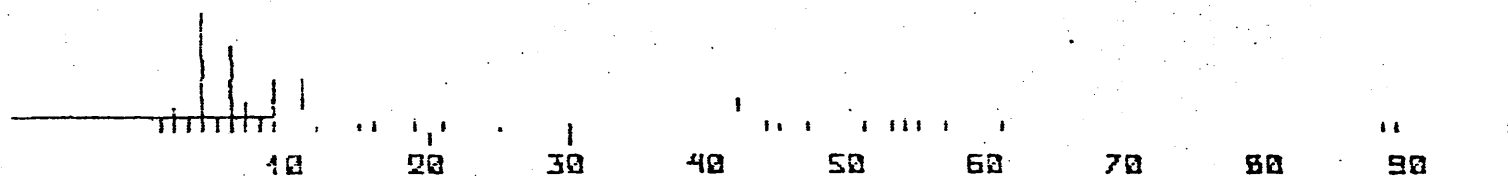
9T8/1 HOMOTRICUM (Sierra de Crevillente)



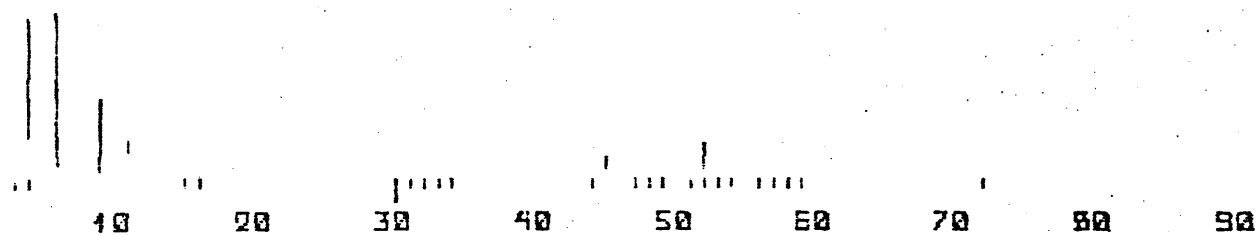
8T10/1 CHAMAEDRYS. (Morata de Tajuña)



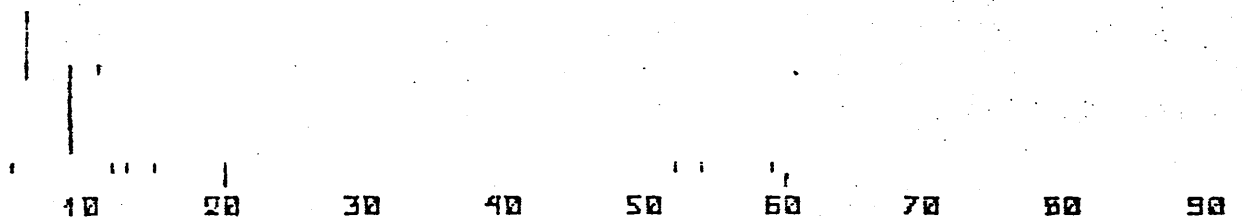
9T10/1 CHAMAEDRYS (Morata de Tajuña)



5T11/1 LUSITANICUM (Antequera)



9T12/1 AUREUM (Sierra de Cázulas)



9T13/1 SUBTRIPHYLUM (Zafarralla)